

Министерство образования и науки Российской Федерации

УДК 611.018.21-002.1:612.017

ГРНТИ 34.39.03, 34.03.37, 87.24.27.

Инв. №

УТВЕРЖДЕНО:
Исполнитель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина»
От имени Руководителя организации _____/Иванов А.О./ М.П.

НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКИЙ ОТЧЕТ

о выполнении 2 этапа Государственного контракта
№ П263 от 29 апреля 2010 г. и Дополнению от 03 марта 2011 г. № 1

Исполнитель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина»
Программа (мероприятие): Федеральная целевая программа «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг., в рамках реализации мероприятия № 1.3.2 Проведение научных исследований целевыми аспирантами.
Проект: Реакция соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов
Руководитель проекта: _____/Мухлынина Елена Артуровна (подпись)

Екатеринбург
2011 г.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ИСПОЛНИТЕЛЕЙ
по Государственному контракту П263 от 29 апреля 2010 на выполнение поисковых
научно-исследовательских работ для государственных нужд

Организация-Исполнитель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина»

Руководитель темы:

без ученой степени, без
ученого звания

_____ Мухлынина Е. А.
подпись, дата

Исполнители темы:

без ученой степени, без
ученого звания

_____ Ерофеев С. А.
подпись, дата

без ученой степени, без
ученого звания

_____ Нелюбина Т. В.
подпись, дата

Реферат

Отчет 57 с., 4 ч., 27 рис., 27 табл., 21 источн., 0 прил.

адаптация, макрофаги, тучные клетки, экстремальные факторы, соединительная ткань, межклеточное вещество, фибробласты

В отчете представлены результаты исследований, выполненных по 2 этапу Государственного контракта № П263 "Реакция соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов" (шифр "НК-481П") от 29 апреля 2010 по направлению "Фундаментальная медицина и физиология" в рамках мероприятия 1.3.2 "Проведение научных исследований целевыми аспирантами.", мероприятия 1.3 "Проведение научных исследований молодыми учеными - кандидатами наук и целевыми аспирантами в научно-образовательных центрах", направления 1 "Стимулирование закрепления молодежи в сфере науки, образования и высоких технологий." федеральной целевой программы "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России" на 2009-2013 годы.

Цель работы - Изучение морфофункционального состояния соединительной ткани различных органов при действии на организм экстремальных факторов.

Методы моделирования экспериментальных воздействий (острой массивной кровопотери, иммобилизационного стресса, острого асептического воспаления); методы забора биологического материала; методы фиксации тканей животных; разнообразные гистологические и иммуногистохимические методики (проводка тканей, заливка в парафин, изготовление срезов тканей, различные методы окрашивания гистологических срезов); методы подсчета количества клеточных компонентов соединительной ткани и другие методы анализа гистологических препаратов; гематологические методики; биохимические методы (высокотемпературный солянокислый гидролиз тканей; спектрофотометрическое определение содержания общего оксипролина).

Основной хирургический инструментарий; гематологический анализатор Celly 70 (Biocode Nysel); лабораторная посуда; автоматический тканевый процессор Leica TP1020; станция для заливки Leica EG1160; микротом Leica SM2000R; автостейнер Leica AUTOSTAINER XL; микроскоп Leica DM2500; видеокамера Leica DFC420; автостейнер для иммуногистохимии DAKO AUTOSTAINER; pH-метр S20-K Seven Easy Mettler Toledo; бидистиллятор стеклянный БС (Химлаборприбор); набор дозаторов Transferpette Brand (0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl); весы лабораторные электронные GF-200 (A&D Company Limited); мультивортекс V-32 BioSan; спектрофотометр СФ-56 Ломо-Спектр; центрифуга Sigma 3K30; компьютеры уровня не ниже Intel Pentium IV; лицензионное программное обеспечение компании Microsoft; программа "Видеотест-морфология 5.0"; ГОСТ 7.32-2001 «Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления». Федеральные государственные образовательные стандарты по направлению 020200 («Биология»)

Подготовлены материалы экспериментальных исследований, раскрывающие содержание работ по решению поставленных научно-исследовательских задач (объем 3,6 п.л.), включая:

- аналитический отчет о проведении экспериментальных исследований;
- отчет по обобщению и оценке результатов исследований;
- модели и методы, позволяющие увеличить объем знаний для более глубокого понимания изучаемого предмета исследования и пути применения новых явлений, механизмов или закономерностей.

Получено заключение экспертной комиссии по открытому опубликованию.

Представлена копия 1 статьи, опубликованной в журнале ВАК с обязательной ссылкой на

проведение поисковой научно-исследовательской работы в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 годы. Основные результаты поисковой научно-исследовательской работы по проекту размещены на странице исполнителя в сети Интернет.

Дополнения от 03 марта 2011 года №1. Номер регистрации проекта во ВНИИЦ 01201001762, дата регистрации проекта 02.07.2010

Содержание

Введение.....	6
1. Аннотированная справка по научным результатам НИР, полученным на 1 этапе.....	8
2. Аналитический отчет о проведении экспериментальных исследований 2 этапа.	9
2.1. Сведения об исследуемой проблеме.....	9
2.2. Описание методов выполнения работы.....	11
2.3. Результаты экспериментальных исследований 2 этапа.....	15
2.3.1. Изучение гематологических показателей периферической крови крыс при действии на организм экстремальных факторов.....	15
2.3.1.1. Гематологические показатели периферической крови крыс в условиях формирования в организме очага острого асептического воспаления.....	15
2.3.1.2. Гематологические показатели периферической крови крыс после острой массивной кровопотери.....	16
2.3.1.3. Гематологические показатели периферической крови крыс после 6-ти часового иммобилизационного стресса.....	17
2.3.2. Оценка морфофункционального состояния клеточного компонента соединительной ткани различных органов у крыс при действии экстремальных факторов...	19
2.3.2.1. Состояние фибробластического звена соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов.....	19
2.3.2.2. Состояние макрофагального звена соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов.....	21
2.3.2.3. Состояние тучноклеточного звена соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов.....	23
2.3.2.4. Состояние лейкоцитарного звена соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов.....	25
2.3.2.5. Оценка функционального состояния клеток соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов	27
2.3.3. Состояние обмена коллагена соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов.....	29
2.4. Обсуждение результатов исследования.....	33
3. Отчет по обобщению и оценке результатов исследований.....	48
4. Публикация результатов НИР.....	52
Заключение.....	57
Список использованных источников.....	58

Введение

Проблема адаптации организма к действию экстремальных факторов и сегодня остается одной из важнейших в современной биологии, физиологии, медицине. Это объясняется увеличением воздействия на организм антропогенных и экологически неблагоприятных факторов.

Рыхлая соединительная ткань широко распространена в организме: она сопровождает строю многих органов. Компоненты рыхлой соединительной ткани участвуют в развитии воспалительных, иммунных, аллергических реакций.

Современная физиология располагает значительными фактическими данными, отражающими разные стороны адаптации организма к действию экстремальных факторов [1, 2]. Достаточно хорошо исследована роль нервной системы, накоплены обширные данные, касающиеся эндокринной регуляции адаптивных реакций, в последние годы широко обсуждается роль иммунной системы в этих процессах. Дана достаточно детальная характеристика роли различных типов лимфоидных клеток при действии экстремальных факторов в регуляции регенерации тканей и метаболических процессов в организме [3]. Обсуждается участие системы фагоцитирующих мононуклеаров в этих процессах [4]. Однако, несмотря на накопленные сведения, роль компонентов рыхлой соединительной ткани в адаптивных реакциях организма остается малоизученной.

Впервые представление о соединительной ткани как о единой функциональной системе было высказано в начале прошлого века академиком Богомольцем. Важный вклад в ее изучение внесли А.А. Максимов и А.А. Заварзин. Впоследствии часто изучение соединительной ткани проводилось с аналитических позиций вне системного подхода, пристальное внимание уделялось исследованию ее отдельных компонентов, частных особенностей ее биохимии, изучению подвергалось только место поражения или воздействия. Однако при этом в настоящее время ряд авторов склоняется к мнению о необходимости изучения соединительной ткани в рамках системного подхода (теория коммуникационных систем [5], система тучных клеток [6]).

Изучение поведения компонентов соединительной ткани различных органов в условиях стресса позволит расшифровать механизмы их участия в адаптивных и компенсаторных процессах. Понять, чем обусловлены сбои данных механизмов при развитии патологических состояний, выявить методы коррекции данных нарушений адаптационного синдрома на ранних этапах их развития.

«Болезни цивилизации» получают чрезвычайно широкое распространение в современном обществе и наносят существенный экономический вред. Тщательное изучение

адаптационных механизмов даст возможность управлять их течением, корректировать его при необходимости, выявлять их патологии на более ранних стадиях.

Многие аспекты физиологии соединительной ткани остаются на данный момент малоизученными и неясными. Это касается как состояния соединительной ткани в норме так при действии на организм экстремальных воздействий. Их изучение и уточнение чрезвычайно важно для современной биологии, физиологии и медицины. Результаты исследования носят фундаментальный характер и позволяют расширить существующие представления о роли системы соединительной ткани в формировании адаптивных и компенсаторных реакций при действии на организм экстремальных факторов.

Целью второго этапа данного исследования является изучение морфофункционального состояния соединительной ткани различных органов при действии на организм экстремальных факторов.

В соответствии с данной целью были поставлены следующие задачи:

- 1) Провести экспериментальные исследования второго этапа:
 - а) дать оценку состояния фибробластического звена соединительной ткани после воздействий;
 - б) дать оценку состояния макрофагального звена соединительной ткани после воздействий;
 - в) дать оценку состояния лейкоцитарного звена соединительной ткани после воздействий;
 - г) провести оценку гематологических показателей у крыс после воздействий;
 - д) провести оценку функционального состояния клеток соединительной ткани;
 - е) провести оценку состояния межклеточного вещества соединительной ткани;
 - ж) провести анализ полученного экспериментального материала, сделать выводы о возможности объединения соединительной ткани в единую систему реагирования на стресс, оценить полноту решения задач и сопоставить данные с современным научно-техническим уровнем.

1. Аннотированная справка по научным результатам НИР, полученным на 1 этапе

В рамках проведения первого этапа НИР «Реакция соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов» (Гос. контракт №П263 от 29 апреля 2010 г.) были выполнены исследования согласно намеченным положениям, указанным в приложении №1 к Гос. контракту. Фактически было осуществлено следующее:

1. Составление аналитического обзора литературы.
2. Выбор оптимального варианта направления исследований.
3. Составление плана проведения экспериментальных исследований.
4. Отработка методики моделирования экспериментальных воздействий – острой массивной кровопотери, иммобилизационного стресса, острого асептического воспаления.
5. Забор органов для дальнейших исследований у интактных животных, у крыс с острой массивной кровопотерей, иммобилизационным стрессом, острым асептическим воспалением.
6. Проведена оценка состояния тимуса, надпочечников, желудка, тонкого кишечника, кожи беспородных крыс в физиологических условиях.
7. Осуществлена оценка количественных изменений и функционального состояния тучноклеточного звена соединительной ткани указанных органов при острой массивной кровопотере, иммобилизационном стрессе, остром асептическом воспалении.
8. Подготовлены к публикации тезисы доклада на конференции.
9. Оформлены и доложены курсовая работа студента 3 года обучения и дипломная работа студентки 5 года обучения по тематике изучаемой проблемы.

В результате работ по первому этапу составлено морфологическое описание соединительной ткани изучаемых органов крыс в физиологических условиях, подготовлен материал (образцы органов животных, залитые в парафин) для дальнейших гистологических исследований на следующем этапе, показано, что тучные клетки различных органов у крыс системно реагируют на экстремальные воздействия различной направленности, что проявляется в виде перераспределения мастоцитов в организме и, вероятно, их миграции из органов образования и депонирования в периферические органы, повышенной дегрануляции биологически активных веществ в межуточное вещество. Дегрануляция тучных клеток направлена в сторону клеток-мишеней. Аналитический обзор по выбранному направлению охватывает 63 источников (в том числе 29 англоязычных).

2. Аналитический отчет о проведении экспериментальных исследований 2 этапа

2.1. Сведения об исследуемой проблеме

Тема изучаемой нами проблемы – «Реакция соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов».

Предметом исследования служит роль соединительной ткани организма в компенсаторно-приспособительных процессах.

Работа носит поисковый научно-исследовательский характер.

Целью работы является изучение морфофункционального состояния соединительной ткани различных органов (тимус, желудок, кишечник, надпочечники, кожа) при действии на организм экстремальных факторов.

В соответствии с данной целью были поставлены следующие задачи:

- 1) Составить аналитический обзор литературы по выбранной проблеме.
- 2) Составить обоснованный план исследования, выбрать направление исследования.
- 3) Провести экспериментальные исследования первого этапа:
 - а) дать морфологическое описание состояния соединительной ткани исследуемых органов (тимус, надпочечники, желудок, двенадцатиперстная кишка, кожа) в физиологических условиях;
 - б) отработать методику моделирования воздействий (острая массивная кровопотеря, иммобилизационный стресс, острое асептическое воспаление);
 - в) провести моделирование острой массивной кровопотери, иммобилизационного стресса, острого асептического воспаления, провести забор органов животных для дальнейших гистологических исследований;
 - г) дать оценку изменениям количественных показателей и функциональной активности тучноклеточного компонента соединительной ткани после указанных воздействий.
- 4) Провести экспериментальные исследования второго этапа:
 - а) дать оценку состояния фибробластического звена соединительной ткани после воздействий;
 - б) дать оценку состояния макрофагального звена соединительной ткани после воздействий;
 - в) дать оценку состояния лейкоцитарного звена соединительной ткани после воздействий;
 - г) провести оценку гематологических показателей у крыс после воздействий;

- д) провести оценку функционального состояния клеток соединительной ткани;
- е) провести оценку состояния межклеточного вещества соединительной ткани;
- ж) провести анализ полученного экспериментального материала, сделать выводы о возможности объединения соединительной ткани в единую систему реагирования на стресс, оценить полноту решения задач и сопоставить данные с современным научно-техническим уровнем.

Вопрос о роли соединительной ткани в компенсаторно-приспособительных процессах занимает важное место в современной науке. Представления о единой функциональной системе соединительной ткани появилось в начале прошлого века в трудах академика А.А. Богомольца. Он отводил соединительной ткани чрезвычайно важную роль в функционировании всего организма, связывал старение организма прежде всего со старением соединительной ткани, указывал на существенное влияние соединительной ткани на функциональные элементы органов [7]. В настоящее время системный подход в научных исследованиях не потерял своей актуальности. Существует представление о системе фагоцитирующих мононуклеаров, ретикуло-эндотелиальной системе, системе тучных клеток, коммуникационных системах. Можно долго спорить о правомерности выделения этих систем. Так, например, представление о ретикуло-эндотелиальной системе было сформулировано в середине прошлого века, затем отброшено как ошибочное, а сейчас снова возрождается. Таким образом, по нашим представлениям системный подход в изучении соединительной ткани не лишен здравого смысла. Однако, для проверки достоверности данной гипотезы необходимо провести дополнительные исследования.

Настоящая работа посвящена изучению роли соединительной ткани в процессах адаптации организма к действию экстремальных факторов. При этом мы в своем исследовании исходим из гипотезы о системной реакции соединительной ткани различных органов на стресс.

2.2. Описание методов выполнения работы

Поскольку планируемые к использованию в работе методы не являются уникальными, а известны широкому кругу исследователей, мы считаем возможным представить лишь краткое описание планируемых в исследовании методов:

Для выполнения цели нашей работы необходимо провести следующие исследования:

1. Изучить состояние соединительной ткани исследуемых органов крыс (тимус, надпочечники, желудок, двенадцатиперстная кишка, кожа) в физиологических условиях;
2. Для изучения состояния соединительной ткани при стрессе провести моделирование воздействий (острая массивная кровопотеря, иммобилизационный стресс, острое асептическое воспаление);
3. Изучить гистологические особенности соединительной ткани различных органов у крыс в условиях острой массивной кровопотери, иммобилизационного стресса, острого асептического воспаления;
4. Изучить биохимические показатели обмена соединительной ткани при действии острой массивной кровопотери, иммобилизационного стресса, острого асептического воспаления;
5. Изучить гематологические показатели при действии острой массивной кровопотери, иммобилизационного стресса, острого асептического воспаления;
6. Изучить функциональное состояние клеток соединительной ткани при действии острой массивной кровопотери, иммобилизационного стресса, острого асептического воспаления (по пролиферативному потенциалу);
7. Провести анализ полученного экспериментального материала, сделать выводы о возможности объединения соединительной ткани в единую систему реагирования на стресс, оценить полноту решения задач и сопоставить данные с современным научно-техническим уровнем.

Методы, применявшиеся для проведения вышеперечисленных исследований

При изучении роли соединительной ткани в компенсаторно-приспособительных процессах мы использовали следующие методы исследования:

1. Методы моделирования экстремальных воздействий:
 - а) острая массивная кровопотеря (кровопускание из хвостовой вены в объеме 2% от массы тела животного [2, 8]);
 - б) иммобилизационный стресс (жесткая фиксация крыс на столиках на спине в течение 6 часов [1]);

в) острое асептическое воспаление (введение под кожу спины 0,5 мл скипидара [9]);

2. Гистологические методы исследования [10]:

а) забор материала;

б) фиксация (10% нейтральный формалин, цинковый фиксатор, фиксатор Буэна);

в) гистологическая проводка;

г) заливка материала (парафин);

д) приготовление срезов (3-5 мкм);

е) окрашивание срезов тканей:

i. гематоксилином и эозином для морфоописания и оценки количества клеток фибробластического ряда;

ii. по Вейгерту-Ван-Гизону для оценки состояния волокнистого компонента;

iii. основным коричневым для оценки состояния тучноклеточного звена соединительной ткани [11];

ж) микроскопия срезов тканей;

3. Методы оценки гематологических показателей (общий анализ крови животных при помощи 18-ти параметрового гематологического анализатора);

4. Биохимические методы исследования (спектрофотометрическое определение содержания общего оксипролина в тканях, как показателя обмена коллагена по методу Bergman and Loxley [12]);

5. Иммунологические методы исследования (иммуногистохимическое окрашивание тканей):

а) иммуногистохимическое не прямое окрашивание с использованием первичных антител к CD68 для оценки количества клеток макрофагального ряда [13];

б) иммуногистохимическое не прямое окрашивание с использованием первичных антител к CD45 для оценки количества клеток лейкоцитарного ряда [14];

в) иммуногистохимическое не прямое окрашивание с использованием первичных антител к Ki-67 для оценки количества пролиферирующих клеток соединительной ткани [15];

Экспериментальное оборудование:

На 1 этапе НИР мы использовали компьютеры уровня не ниже Intel Pentium IV, лицензионное программное обеспечение компании Microsoft, Весы промышленные Acculab SVI-10/1, автоматический тканевый процессор Leica TP1020, станция для заливки Leica

EG1160, микротом Leica SM2000R, микроскоп Leica DM2500, видеокамера Leica DFC420, бидистиллятор стеклянный БС (Химлаборприбор).

На 2 этапе НИР дополнительно использовали гематологический анализатор Celly 70 (Biocode Hycl), автостейнер Leica AUTOSTAINER XL, автостейнер для иммуногистохимии DAKO AUTOSTAINER, станцию для заключения срезов Leica CV5030, pH-метр S20-K Seven Easy Mettler Toledo, набор дозаторов Transferpette Brand (0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl), весы лабораторные электронные GF-200 (A&D Company Limited), мульти-вортекс V-32 BioSan, спектрофотометр СФ-56 Ломо-Спектр, центрифугу Sigma 3K30, программу анализа изображений «Видеотест-Морфология 5.0».

Ожидаемые научные результаты

Научные результаты 1 этапа НИР оформлены в виде тезисов конференции (тезисы «Состояние мастоцитов различных органов в условиях асептического воспаления» приняты для опубликования в сборнике материалов Всероссийской молодежной конференции «Биология будущего: традиции и инновации», г. Екатеринбург, 25-28 октября 2010 года), представлены в виде доклада на конференции российского уровня (устный доклад на III Всероссийском с международным участием конгресс студентов и аспирантов-биологов «Симбиоз-Россия 2010», г. Нижний Новгород, 24-29 мая, 2010 года), оформлены в виде курсовой студента 3 года обучения и дипломной квалификационной работы студентки 5 курса.

Результаты 2 этапа НИР планировалось представить в виде гипотезы о механизме участия соединительной ткани в компенсаторно-приспособительных процессах, в форме подготовки 1 статьи в одном из ведущих научных журналов (статья «Реакция соединительной ткани различных локализаций на действие иммобилизационного стресса» опубликована в журнале «Вестник уральской медицинской академической науки», №4 (32), 2010 год), докладов на конференциях российского уровня (устные доклады на Российской конференции с международным участием "Фундаментальные вопросы гематологии. Достижения и перспективы", а также Всероссийской, с международным участием, конференции молодых ученых, посвященной 90-летию Уральского государственного университета им. А.М. Горького; стендовый доклад на Пятой Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов"), оформить частично в курсовые работы студентов 4 года обучения, что и было выполнено.

Кроме того, результаты полученных исследований планируется положить в основу кандидатской диссертации по теме «Реакция соединительной ткани при действии на

организм экстремальных факторов». Данные исследования планируется включать в программы дисциплин, преподаваемых на кафедре физиологии человека и животных биологического факультета УрГУ и использовать в дальнейших научных исследованиях института иммунологии и физиологии УрО РАН.

Обзор литературы по выбранной тематике был необходим для более полного понимания исследуемой проблемы и постановки цели и задач.

Выбор острой массивной кровопотери, иммобилизационного стресса и острого асептического воспаления в качестве экспериментальных моделей связан с тем, что все они представляют собой модели классически-используемых экстремальных воздействий, имеют различную точку приложения (разную направленность), легки в моделировании.

Выбор органов для исследования (тимус, желудок, кишечник, надпочечники, кожа) связан с тем, что для выявления системного действия стресса на соединительную ткань, необходимо было взять органы непосредственно вовлеченные в развитие стресс-реакции (тимус, органы ЖКТ, надпочечники) и напрямую не связанные с ней (кожа), но с выраженной соединительной тканью. При этом для рационального проведения исследования было благоразумно ограничиться минимальным количеством органов.

Для всестороннего анализа реакции соединительной ткани необходимо использование различных методов, поэтому мы считаем обоснованным применение гистологических, биохимических, иммунологических методов исследования для оценки количественных характеристик (число клеток, концентрация веществ), полуколичественных (коэффициент дегрануляции, гистохимический индекс) и качественных показателей (морфологическое описание препаратов).

На 1 этапе НИР больше внимания уделено теоретической подготовке и формированию задела для дальнейших исследований – набор материала, первичные исследования, отработка моделей.

На 2 этапе НИР основное внимание уделено экспериментальным исследованиям, изучению влияния стрессов на показатели соединительной ткани, анализу полученных данных.

2.3. Результаты экспериментальных исследований 2 этапа

2.3.1. Изучение гематологических показателей периферической крови крыс при действии на организм экстремальных факторов

Для оценки общего состояния организма после проведения экспериментальных воздействий, а также для подтверждения развития экстремальных состояний было проведено исследование гематологических показателей периферической крови крыс с использованием 18-ти параметрового гематологического анализатора «Celly 70».

2.3.1.1. Гематологические показатели периферической крови крыс в условиях формирования в организме очага острого асептического воспаления

Через 6 часов после введения скипидара в периферической крови отмечается повышение как абсолютного ($U=35,00$; $p=0,03$), так и относительного количества нейтрофилов ($U=12$; $p=0,0007$), таблица 1.

Таблица 1 – Гематологические показатели периферической крови крыс при воспалении.

Показатель	Интактные	Воспаление 6 часов
WBC	11,15±0,59	11,78±1,64
Lym#	7,35±0,39	5,85±0,81
Mid#	1,10±0,09	1,30±0,19
Grn#	2,69±0,22	4,63±0,81*
Lym%	66,16±1,45	50,38±2,54*
Mid%	9,84±0,57	11,25±0,80
Grn%	24,00±1,19	38,38±2,80*
RBC	9,12±0,16	9,05±0,27
Hb	15,59±0,19	15,70±0,39
Hct	44,63±0,47	45,76±0,84
MCV	49,06±0,59	50,81±1,19
MCH	16,83±0,22	17,18±0,22
MCHC	34,29±0,33	33,88±0,55
RDW	14,99±0,23	14,40±0,39
Plt	652,16±24,10	870,63±79,60*
Pct	0,44±0,01	0,58±0,05*
MPV	6,76±0,09	6,71±0,12
PDW	11,46±0,12	11,30±0,12

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p<0,05$).

Данные изменения показателей белой крови можно связать как с неспецифической реакцией на введение скипидара, так и с мобилизацией гранулоцитов и их миграцией к месту формирования воспалительного очага. При этом наблюдается снижение процента лимфоцитов относительно контроля ($U=9$; $p=0,0004$). Также на раннем сроке развития воспалительной реакции отмечается повышение количества тромбоцитов ($U=34$; $p=0,03$) и тромбокрита ($U=32,5$; $p=0,02$), что, вероятно, является неспецифической стрессорной реакцией на введение скипидара.

2.3.1.2. Гематологические показатели периферической крови крыс после острой массивной кровопотери

Данные гематологического анализа крови крыс показывают снижение через 6 часов после проведения кровопотери количества эритроцитов ($U=0$; $p=0,00005$), гемоглобина ($U=0$; $p=0,00005$) и гематокритного показателя ($U=0$; $p=0,00005$), таблица 2.

Таблица 2 – Гематологические показатели периферической крови крыс после острой массивной кровопотери.

Показатель	Интактные	Кровопотеря 6 часов
WBC	11,15±0,59	11,28±1,63
Lym#	7,35±0,39	6,55±0,78
Mid#	1,10±0,09	1,46±0,33
Grn#	2,69±0,22	3,26±1,66
Lym%	66,16±1,45	61,88±5,88
Mid%	9,84±0,57	13,63±2,96
Grn%	24,00±1,19	24,50±7,90
RBC	9,12±0,16	6,41±0,15*
Hb	15,59±0,19	11,33±0,21*
Hct	44,63±0,47	31,40±0,92*
MCV	49,06±0,59	48,99±0,80
MCH	16,83±0,22	17,71±0,32
MCHC	34,29±0,33	36,20±0,92
RDW	14,99±0,23	14,85±0,65
Plt	652,16±24,10	482,75±46,27*
Pct	0,44±0,01	0,33±0,03*
MPV	6,76±0,09	6,88±0,05
PDW	11,46±0,12	11,78±0,10*

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p<0,05$).

Также снижается количество тромбоцитов ($U=21$; $p=0,003$) и тромбоцит (U=23,5; $p=0,005$) относительно контроля. При этом увеличивается гетерогенность тромбоцитов по размерам ($U=35,5$; $p=0,03$), что может быть обусловлено наличием агрегатов тромбоцитов, фрагментов кровяных пластинок. Вообще данные изменения являются типичными для постгеморрагической анемии. Понижение числа клеток красной крови, тромбоцитов и гемоглобина напрямую связано с массивной кровопотерей. Кроме того, снижение числа тромбоцитов вызвано их потреблением в процессе тромбообразования. Уменьшение гематокрита и тромбокрита связано с восполнением недостающего объема крови тканевой жидкостью.

2.3.1.3. Гематологические показатели периферической крови крыс после 6-ти часового иммобилизационного стресса.

Таблица 3 – Гематологические показатели периферической крови крыс после иммобилизационного стресса.

Показатель	Интактные	Иммобилизация 6 часов
WBC	11,15±0,59	16,44±2,40*
Lym#	7,35±0,39	3,54±0,48*
Mid#	1,10±0,09	2,71±1,49
Grn#	2,69±0,22	10,19±1,25*
Lym%	66,16±1,45	22,71±2,07*
Mid%	9,84±0,57	12,29±6,05
Grn%	24,00±1,19	65,00±6,06*
RBC	9,12±0,16	9,55±0,44
Hb	15,59±0,19	15,94±0,42
Hct	44,63±0,47	46,09±1,17
MCV	49,06±0,59	48,73±1,99
MCH	16,83±0,22	16,24±0,79
MCHC	34,29±0,33	33,30±0,53
RDW	14,99±0,23	16,17±0,64
Plt	652,16±24,10	876,43±33,70*
Pct	0,44±0,01	0,55±0,02*
MPV	6,76±0,09	6,34±0,05*
PDW	11,46±0,12	11,21±0,13

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p<0,05$).

Непосредственно после 6-ти часового иммобилизационного стресса в периферической крови развивается умеренный нейтрофильный лейкоцитоз ($U=28$; $p=0,03$), таблица 3.

При этом снижается количество лимфоцитов ($U=6,5$; $p=0,0005$) относительно уровня интактных крыс. Также после иммобилизации наблюдается снижение доли лимфоцитов ($U=0$; $p=0,0001$) и повышение относительно контроля процента нейтрофилов ($U=0$; $p=0,0001$). Развитие нейтрофильного лейкоцитоза при стрессе связано главным образом с увеличенным поступлением в циркуляцию костномозговых нейтрофилов, рекрутирование которых потенцируется глюкокортикоидами и катехоламинами. Лимфоцитопения при этом бывает относительной в результате имеющегося нейтрофилеза. [16]. Кроме того после иммобилизации отмечается повышение количества тромбоцитов ($U=5$; $p=0,0004$) и тромбокрит ($U=11,5$; $p=0,001$) при снижении среднего объема тромбоцитов ($U=15,5$; $p=0,003$) относительно контроля. Активация системы свертывания крови при стрессе обусловлена действием катехоламинов [17].

Таким образом, общей неспецифической реакцией на стресс со стороны периферической крови является умеренный нейтрофильный лейкоцитоз, относительная лимфоцитопения. Данные реакции с той или иной степенью выраженности отмечаются при всех исследованных экспериментальных воздействиях. Кроме того, при формировании воспалительного очага и после иммобилизации повышается количество тромбоцитов и тромбокрит, что также можно отнести к проявлением стресс-реакции. Данный эффект отсутствует у животных с постгеморрагической анемией в силу специфического действия кровопускания.

2.3.2. Оценка морфофункционального состояния клеточного компонента соединительной ткани различных органов у крыс при действии экстремальных факторов

На 2 этапе выполнения НИР было проведено изучение количественных характеристик фибробластов, макрофагов, лейкоцитов соединительной ткани надпочечников, тимуса, желудка, кишечника и кожи через 6 часов после введения скипидара, острой массивной кровопотери и иммобилизации. Также мы посчитали необходимым упомянуть и результаты 1 этапа НИР в части количественных изменений уровня мастоцитов (без приведения данных по их функциональному состоянию) после воздействий для формирования целостной картины изменений состояния соединительной ткани, сопровождающих экстремальные воздействия. Кроме того, исследовался пролиферативный потенциал клеток соединительной ткани по экспрессии ядерного белка Ki-67, как показатель их функциональной активности.

2.3.2.1. Состояние фибробластического звена соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов

Проведенные морфологические исследования свидетельствуют, что через 6 часов после введения скипидара количество клеток фибробластического ряда увеличивается в кишечнике ($U=1,5$; $p=0,02$) и надпочечниках ($U=3$; $p=0,018$), таблица 4.

Таблица 4 – Количество фибробластов в соединительной ткани различных органов у крыс при воспалении.

	Интактные	Воспаление 6 часов
Тимус	599,22±113,60	544,75±60,53
Кишечник	779,77±65,64	1265,37±135,99*
Кожа	926,07±79,78	854,48±52,40
Желудок	1579,77±192,17	1441,25±98,88
Надпочечники	1949,97±130,23	2966,54±290,66*

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p<0,05$).

Через 6 часов после проведения острой массивной кровопотери отмечается статистически значимое повышение количества фибробластов в капсуле надпочечников ($U=0$; $p=0,004$). При этом в коже плотность фибробластов снижается относительно уровня интактных крыс ($U=0$; $p=0,009$), таблица 5.

Таблица 5 – Количество фибробластов в соединительной ткани различных органов у крыс после кровопотери.

	Интактные	Кровопотеря 6 часов
Тимус	599,22±113,60	476,27±27,23
Кишечник	779,77±65,64	790,66±50,53
Кожа	926,07±79,78	554,09±36,03*
Желудок	1579,77±192,17	1089,49±84,82
Надпочечники	1949,97±130,23	3408,56±324,65*

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p < 0,05$).

Данные морфологического исследования соединительной ткани различных органов после 6-ти часовой иммобилизации свидетельствуют о повышении плотности клеток фибробластического ряда в кишечнике ($U=1$; $p=0,016$). Вместе с тем в соединительной ткани кожи количество фибробластов после иммобилизации снижается ($U=0$; $p=0,009$), таблица 6.

Таблица 6 – Количество фибробластов в соединительной ткани различных органов у крыс после иммобилизационного стресса.

	Интактные	Иммобилизация 6 часов
Тимус	599,22±113,60	815,56±46,33
Кишечник	779,77±65,64	1125,29±73,32*
Кожа	926,07±79,78	520,23±49,08*
Желудок	1579,77±192,17	1195,07±22,87
Надпочечники	1949,97±130,23	1746,15±138,51

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p < 0,05$).

2.3.2.2. Состояние макрофагального звена соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов

Данные иммуногистохимического исследования экспрессии CD68 свидетельствуют, что через 6 часов после введения скипидара увеличивается количество клеток макрофагального ряда в соединительной ткани кожи ($U=0$; $p=0,009$). В остальных исследуемых органах не отмечается статистически значимых изменений в содержании данных клеток в ранний период развития воспаления, таблица 7.

Таблица 7 – Количество макрофагов в соединительной ткани различных органов у крыс при воспалении.

	Контроль	Воспаление 6 часов
Надпочечники	21,78±0,95	36,32±16,41
Кожа	196,11±50,89	470,31±31,49*
Тимус	302,72±69,88	221,01±14,91
Желудок	318,29±49,50	392,22±42,39
Кишечник	451,36±80,70	534,37±77,00

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p<0,05$).

Через 6 часов после проведения острой массивной кровопотери также отмечается рост количества CD68+клеток в коже ($U=0$; $p=0,009$) относительно уровня интактных животных, таблица 8.

Таблица 8 – Количество макрофагов в соединительной ткани различных органов у крыс после кровопотери.

	Контроль	Кровопотеря 6 часов
Надпочечники	21,78±0,95	17,12±6,58
Кожа	196,06±50,88	544,75±41,55*
Тимус	302,72±69,88	177,43±17,81
Желудок	318,29±49,50	275,49±65,65
Кишечник	451,24±80,67	281,71±42,44

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p<0,05$).

Имобилизационный стресс проводился с целью выявления общей неспецифической составляющей воздействия. Проведенные исследования указывают на снижение плотности макрофагов соединительнотканной капсулы надпочечников ($U=0$; $p=0,009$), трабекул тимуса

($U=0,5$; $p=0,01$) и собственной пластинки и подслизистой желудка ($U=0$; $p=0,009$) относительно интактных крыс. При этом в кишечнике подобное уменьшение количества макрофагов имеет уровень тенденции, таблица 9.

Таблица 9 – Количество макрофагов в соединительной ткани различных органов у крыс после иммобилизационного стресса.

	Контроль	Иммобилизация 6 часов
Надпочечники	21,78±0,95	8,92±1,36*
Кожа	196,06±50,88	319,07±36,34
Тимус	302,72±69,88	83,27±9,89*
Желудок	318,29±49,50	160,31±17,16*
Кишечник	451,24±80,67	247,47±46,00

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p<0,05$).

2.3.2.3. Состояние тучноклеточного звена соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов

Проведенные исследования содержания тучных клеток в соединительно-тканых структурах исследуемых органов не выявило статистически значимых изменений по сравнению с интактными животными через 6 часов после введения скипидара, таблица 10.

Таблица 10 – Количество тучных клеток в соединительной ткани различных органов у крыс при воспалении.

	Контроль	Воспаление 6 часов
Надпочечники	38,52±9,32	57,07±11,72
Желудок	117,51±22,26	116,21±20,86
Кожа с брюшной стороны	135,41±11,70	168,87±14,90
Тимус	170,43±11,91	147,15±8,76
Кишечник	390,27±29,68	357,98±31,97
Кожа в месте воспаления	135,41±11,70	171,21±33,72

Постгемморагическая анемия через 6 часов также не вызывает статистически значимых изменений количества тучных клеток в изучаемых органах, таблица 11. При этом отмечается тенденция к повышению плотности мастоцитов в кишечнике и коже.

Таблица 11 – Количество тучных клеток в соединительной ткани различных органов у крыс после кровопотери.

	Контроль	Кровопотеря 6 часов
Надпочечники	38,52±9,32	56,03±6,69
Желудок	117,51±22,26	147,86±16,14
Кожа	135,41±11,70	194,55±24,98
Тимус	170,43±11,91	135,41±23,68
Кишечник	390,27±29,68	529,18±63,22

Иммобилизационный стресс приводит к снижению относительно контроля количества тучных клеток в капсуле надпочечников ($U=3$; $p=0,047$). Вместе с тем, в кишечнике отмечается статистически значимое увеличение плотности мастоцитов после 6-ти часовой иммобилизации по сравнению с уровнем интактных животных ($U=3$; $p=0,047$), таблица 12.

Таблица 12 – Количество тучных клеток в соединительной ткани различных органов у крыс после иммобилизации.

	Контроль	Иммобилизация 6 часов
Надпочечники	38,52±9,32	19,77±2,62*
Желудок	117,51±22,26	224,12±55,10
Кожа	135,41±11,70	157,20±19,44
Тимус	170,43±11,91	171,21±13,42
Кишечник	390,27±29,68	585,21±82,23*

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p < 0,05$).

2.3.2.4. Состояние лейкоцитарного звена соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов

Проведенные исследования экспрессии CD45 в соединительной ткани изучаемых органов выявили снижение содержания CD45-позитивных клеток в капсуле надпочечников через 6 часов после введения скипидара ($U=0$; $p=0,001$). Кроме того воспаление приводит к уменьшению плотности лейкоцитов в собственной пластинке кишечника ($U=0$; $p=0,025$), таблица 13.

Таблица 13 – Количество лейкоцитов в соединительной ткани различных органов у крыс при воспалении.

	Контроль	Воспаление 6 часов
Надпочечники	142,91±14,09	42,02±11,20*
Тимус	206,23±56,43	258,37±52,23
Кожа	754,86±106,67	1003,89±102,03
Кишечник	2469,52±267,22	1452,14±153,10*
Желудок	3125,07±171,67	2494,94±452,04

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p<0,05$).

Через 6 часов после проведения кровопотери отмечается повышение количества лейкоцитов в капсуле надпочечников ($U=0$; $p=0,001$) и коже ($U=6$; $p=0,04$), таблица 14.

Таблица 14 – Количество лейкоцитов в соединительной ткани различных органов у крыс после кровопотери.

	Контроль	Кровопотеря 6 часов
Надпочечники	142,91±14,09	273,93±21,23*
Тимус	206,23±56,43	186,77±27,40
Кожа	754,86±106,67	1150,20±129,01*
Кишечник	2469,52±267,22	3003,89±257,63
Желудок	3125,07±171,67	3087,94±334,13

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p<0,05$).

Иммобилизационный стресс приводит к повышению суммарного количества лейкоцитов в межлобулярной соединительной ткани тимуса ($U=4$; $p=0,045$), таблица 15.

Таблица 15 – Количество лейкоцитов в соединительной ткани различных органов у крыс после иммобилизации.

	Контроль	Иммобилизация 6 часов
Надпочечники	142,91±14,09	200,78±73,72
Тимус	206,23±56,43	294,16±54,39*
Кожа	754,86±106,67	765,76±43,58
Кишечник	2469,52±267,22	2941,63±128,82
Желудок	3125,07±171,67	3078,60±432,68

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p < 0,05$).

2.3.2.5. Оценка функционального состояния клеток соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов

В качестве показателя функциональной активности клеток соединительной ткани нами была изучена их пролиферативная активность по экспрессии ядерного белка Ki-67. Проведенные исследования свидетельствуют, что через 6 часов после инициации локального воспаления в коже (в месте, удаленном от очага) отмечается повышение количества Ki-67+ клеток ($U=0$; $p=0,009$), таблица 16, что указывает на повышение числа клеток, находящихся в активных фазах клеточного цикла ($G1$, S , $G2$ и митозе). Данный протеин отсутствует в покоящихся клетках ($G0$ фаза). При этом в надпочечниках в капсуле, напротив, отмечается статистически значимое снижение количества пролиферирующих клеток ($U=1$; $p=0,016$), таблица 16.

Таблица 16 – Количество пролиферирующих клеток в соединительной ткани различных органов у крыс при воспалении.

	Контроль	Воспаление 6 часов
Кожа	38,13±6,20	145,27±28,08*
Надпочечники	44,36±5,85	21,79±2,54*
Тимус	49,80±14,37	74,71±23,06
Желудок	84,05±18,93	180,54±49,91
Кишка	364,20±38,16	308,17±47,62

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p<0,05$).

Через 6 часов после проведения массивной кровопотери в капсуле надпочечников наблюдается увеличение количества Ki-67 позитивных клеток ($U=2$; $p=0,028$) по сравнению с контролем, таблица 17.

Таблица 17 – Количество пролиферирующих клеток в соединительной ткани различных органов у крыс после кровопотери.

	Контроль	Кровопотеря 6 часов
Кожа	38,13±6,20	54,47±7,38
Надпочечники	44,36±5,85	62,26±3,48*
Тимус	49,80±14,37	48,25±5,72
Желудок	84,05±18,93	96,50±18,02
Кишка	364,20±38,16	368,87±74,71

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p<0,05$).

Данные иммуногистохимического исследования экспрессии Ki-67 в клетках соединительной ткани различных органов не выявило значимых изменений в сравнении в интактными животными, таблица 18. Однако, имеется тенденция к снижению количества пролиферирующих клеток в надпочечниках и кишечнике.

Таблица 18 – Количество пролиферирующих клеток в соединительной ткани различных органов у крыс после иммобилизации.

	Контроль	Иммобилизация 6 часов
Кожа	38,13±6,20	45,14±10,27
Надпочечники	44,36±5,85	20,23±8,01
Тимус	49,80±14,37	15,94±2,48
Желудок	84,05±18,93	54,47±12,30
Кишка	364,20±38,16	277,04±18,35

Проведена также морфологическая оценка деструктивных изменений в изучаемых органах после экстремальных воздействий. В надпочечниках не было выявлено выраженных изменений в состоянии микроциркуляторного русла и паренхимы органа после проведенных воздействий. В тимусе обращает на себя внимание увеличение количества апоптотических телец после кровопотери и иммобилизации. Вероятно, данный процесс направлен на сдерживание аутоагрессии иммунной системы против поврежденных клеток организма. Воспаление и иммобилизационный стресс вызывает развитие полнокровия сосудов в стенке желудка и кишечника, кроме того уже через 6 часов отмечается развитие деструктивных процессов в слизистой, формирование язвенных дефектов. В лимфоидной ткани, ассоциированной с органами ЖКТ, повышается уровень апоптоза. Представляют интерес морфологические изменения, отмечаемые в коже – в участке удаленном от области воспаления наблюдается развитие дистрофических изменений в дерме, имеются очаги миомалации. При кровопотере и иммобилизации в коже отмечаются сходные явления. Таким образом, различные экстремальные воздействия уже на ранних сроках вызывают развитие дистрофических, деструктивных изменений в органах ЖКТ, коже, тимусе, в лимфоидной ткани увеличивается количество клеток, входящих в апоптоз.

2.3.3. Состояние обмена коллагена соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов

Одним из важнейших показателей состояния соединительной ткани является обмен коллагена. Традиционно оценка коллагена и образованных им волокон ведется двумя методами – морфологическим и биохимическим. Морфологические характеристики коллагеновых волокон включают в себя как качественные показатели, так и количественные (площадь коллагеновых волокон, например). Однако, учитывая, что изучение реакции соединительной ткани на различные воздействия проводится в ранние сроки развития компенсаторно-приспособительных процессов (6 часов), а также более высокую мобильность биохимических реакций по сравнению с морфологическими изменениями, мы остановились на спектрофотометрической оценке содержания суммарного оксипролина методом Bergman and Loxley, как показателе обмена коллагена. В таблицах 19 – 27 приведено количество общего оксипролина, общего коллагена и процент коллагена в органах интактных крыс и после проведения различных воздействий.

Проведенные биохимические исследования указывают на статистически значимое снижение в желудке количества общего оксипролина, коллагена и процентного содержания коллагена в органе через 6 часов после введения скипидара ($U=2$; $p=0,028$), таблицы 19 – 21. Кроме того отмечается уменьшение общего коллагена в коже на удаленном от воспалительного очага участке ($U=4$; $p=0,045$). В месте воспаления (кожа спины), напротив, отмечается увеличение содержания общего оксипролина ($U=2$; $p=0,03$)

Таблица 19 – Содержание общего оксипролина в органах крыс при остром асептическом воспалении (мкг/мг сухой массы органа).

	Контроль	Воспаление 6 часов
Надпочечники	1,26±0,24	1,27±0,11
Тимус	1,96±0,16	1,98±0,26
Кишечник	4,53±0,51	3,65±0,20
Желудок	6,23±0,41	5,15±0,20*
Кожа брюха	8,21±0,43	6,53±0,55*
Кожа спины	11,23±0,91	14,91±1,10*

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p<0,05$).

Таблица 20 – Содержание общего коллагена в органах крыс при остром асептическом воспалении (мкг/мг сухой массы органа).

	Контроль	Воспаление 6 часов
Надпочечники	8,75±1,69	8,85±0,78
Тимус	13,57±1,14	13,74±1,81
Кишечник	31,46±3,57	25,35±1,39
Желудок	43,23±2,81	35,71±1,36*
Кожа брюха	57,01±2,98	45,28±3,84*
Кожа спины	77,93±6,29	103,49±8,49*

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p<0,05$).

Таблица 21 – Процентное содержание коллагена в разных органах при остром асептическом воспалении (%).

	Контроль	Воспаление 6 часов
Надпочечники	0,87±0,17	0,88±0,08
Тимус	1,36±0,11	1,37±0,18
Кишечник	3,15±0,35	2,53±0,14
Желудок	4,32±0,28	3,57±0,14*
Кожа брюха	5,70±0,30	4,53±0,38*
Кожа спины	7,79±0,63	10,35±0,85*

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p<0,05$).

Острая массивная кровопотеря через 6 часов приводит к снижению показателей коллагена в желудке ($U=3$; $p=0,047$) и коже ($U=2$; $p=0,018$), таблицы 22 – 24, что свидетельствует о преобладании катаболических процессов в данных локалитетах над анаболическими.

Таблица 22 – Содержание общего оксипролина в органах крыс после острой массивной кровопотери (мкг/мг сухой массы органа).

	Контроль	Кровопотеря 6 часов
Надпочечники	1,26±0,24	1,04±0,08
Тимус	1,96±0,16	2,18±0,41
Кишечник	4,53±0,51	3,47±0,45
Желудок	6,23±0,41	4,98±0,23*
Кожа брюха	8,21±0,43	5,86±0,49*

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p<0,05$).

Таблица 23 – Содержание общего коллагена в органах крыс после острой массивной кровопотери (мкг/мг сухой массы органа).

	Контроль	Кровопотеря 6 часов
Надпочечники	8,75±1,69	7,24±0,59
Тимус	13,57±1,14	15,16±2,87
Кишечник	31,46±3,57	24,06±3,10
Желудок	43,23±2,81	34,53±1,57*
Кожа брюха	57,01±2,98	40,66±3,41*

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p<0,05$).

Таблица 24 – Процентное содержание коллагена в разных органах после острой массивной кровопотери (%).

	Контроль	Кровопотеря 6 часов
Надпочечники	0,87±0,17	7,24±0,59
Тимус	1,36±0,11	15,16±2,87
Кишечник	3,15±0,35	24,06±3,10
Желудок	4,32±0,28	34,53±1,57*
Кожа брюха	5,70±0,30	40,66±3,41*

Примечание: * - различие с контролем достоверно ($p<0,05$).

Проведенное исследование показателей обмена коллагена после 6-ти часового иммобилизационного стресса не выявили статистически значимых изменений во всех изученных органах, таблицы 25 – 27.

Таблица 25 – Содержание общего оксипролина в органах крыс после иммобилизационного стресса (мкг/мг сухой массы органа).

	Контроль	Иммобилизация 6 часов
Надпочечники	1,26±0,24	1,73±0,25
Тимус	1,96±0,16	2,60±0,35
Кишечник	4,53±0,51	5,03±0,17
Желудок	6,23±0,41	7,04±0,52
Кожа брюха	8,21±0,43	7,46±0,48

При этом из литературных данных известно, что эмоциональный стресс вызывает активацию катаболизма и ингибирование синтетических процессов в обмене коллагена в отдельных органах. Для объяснения противоречий данный вопрос требует более тщательной проработки, с изучением течения во времени, возможным применением модификаций данной модели стресса, а также расширением групп животных и исследуемых показателей, комплексной оценкой.

Таблица 26 – Содержание общего коллагена в разных органах крыс после иммобилизационного стресса (мкг/мг сухой массы органа).

	Контроль	Иммобилизация 6 часов
Надпочечники	8,75±1,69	11,97±1,72
Тимус	13,57±1,14	18,05±2,44
Кишечник	31,46±3,57	34,91±1,21
Желудок	43,23±2,81	48,83±3,61
Кожа брюха	57,01±2,98	51,60±3,30

Таблица 27 – Процентное содержание коллагена в разных органах после иммобилизационного стресса (%).

	Контроль	Иммобилизация 6 часов
Надпочечники	0,87±0,17	1,20±0,17
Тимус	1,36±0,11	1,80±0,24
Кишечник	3,15±0,35	3,49±0,12
Желудок	4,32±0,28	4,88±0,36
Кожа брюха	5,70±0,30	5,16±0,33

2.4. Обсуждение результатов исследования

Для оценки системности ответа представляет интерес сравнить реакцию отдельных клеточных типов в изучаемых органах на различные экстремальные воздействия. На рисунке 1 представлены изменения со стороны фибробластического звена соединительной ткани на острое асептическое воспаление, острую массивную кровопотерю и иммобилизационный стресс. В ответ на воспаление и кровопотерю отмечается повышение количества фибробласто-подобных клеток капсулы надпочечников. Известно, что артериальная гипотензия после кровопотери, тем не менее, не приводит к ухудшению кровотока в надпочечниках [18], что, вероятно, обусловлено наличием местных механизмов компенсации. Капсула надпочечников, а также перикапсулярная зона, являются областью локализации стволовых и прогениторных клеток [19]. Возможно, увеличение количества фибробласто-подобных клеток в капсуле связано с миграцией, пролиферацией и дифференцировкой стволовых клеток.

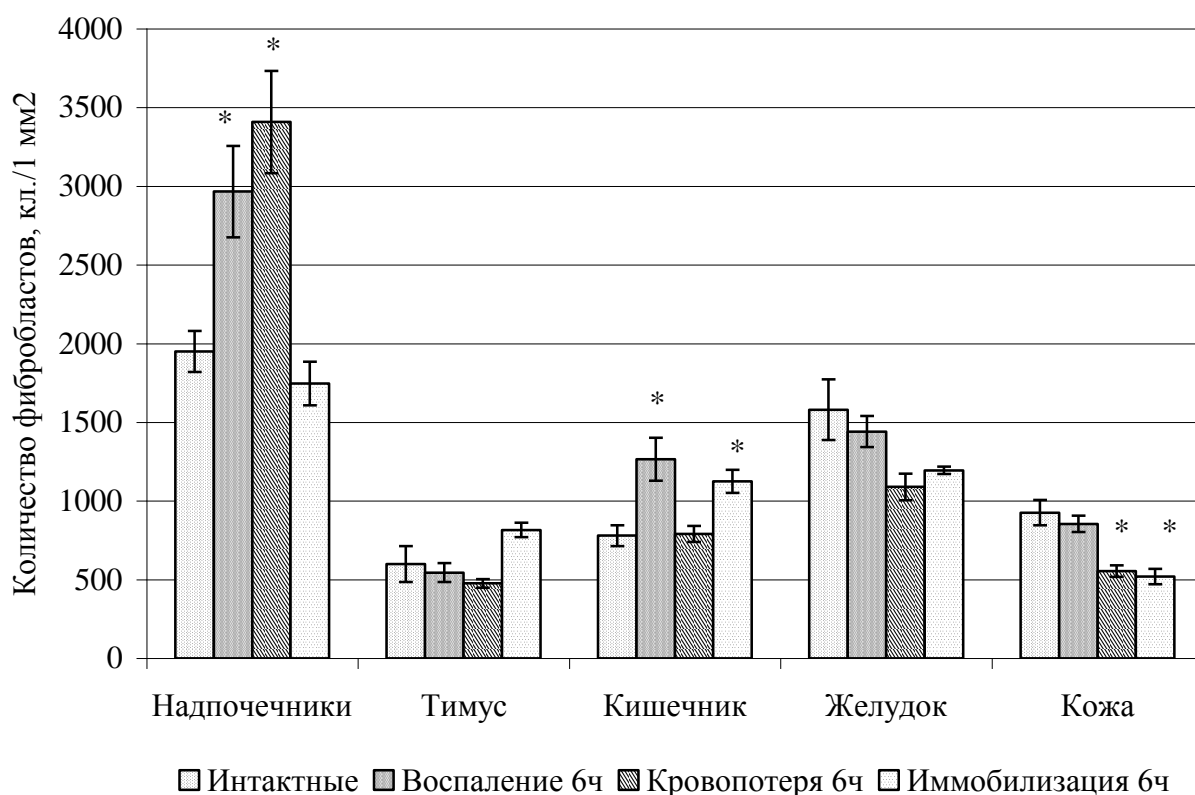


Рисунок 1 – Количество фибробластов в соединительной ткани различных органов при действии экстремальных факторов (* - различие с контролем достоверно ($p < 0,05$)).

Кроме того, количество фибробластов растет в собственной пластинке слизистой кишечника при воспалении и после иммобилизационного стресса. Изменение общей и

регионарной гемодинамики, особенно при антиортостатическом положении тела, является также одним из первичных пусковых механизмов нарушения функционирования пищеварительной системы. Следует иметь в виду и то, что при гипокинезии в области органов брюшной полости образуются своего рода застойные депо крови. Вероятно, повышение количества фибробластов после иммобилизации связано с данными изменениями гемодинамики. Повышение плотности фибробластов в кишечнике после введения скипидара, возможно, также связано с неспецифической стрессорной реакцией, однако, данное явление может быть вызвано системным влиянием провоспалительных медиаторов. Снижение количества фибробластов в коже после кровопотери и иммобилизации можно связать с активацией симпатoadреналовой системы и централизацией кровообращения, в результате чего ухудшается снабжение кровью кожи, что ведет к гипоксии и некробиотическим изменениям со стороны соединительной ткани. Глюкокортикоиды, вырабатываемые корой надпочечников при развитии стресс-реакции, тормозят пролиферацию фибробластов и синтез коллагена.

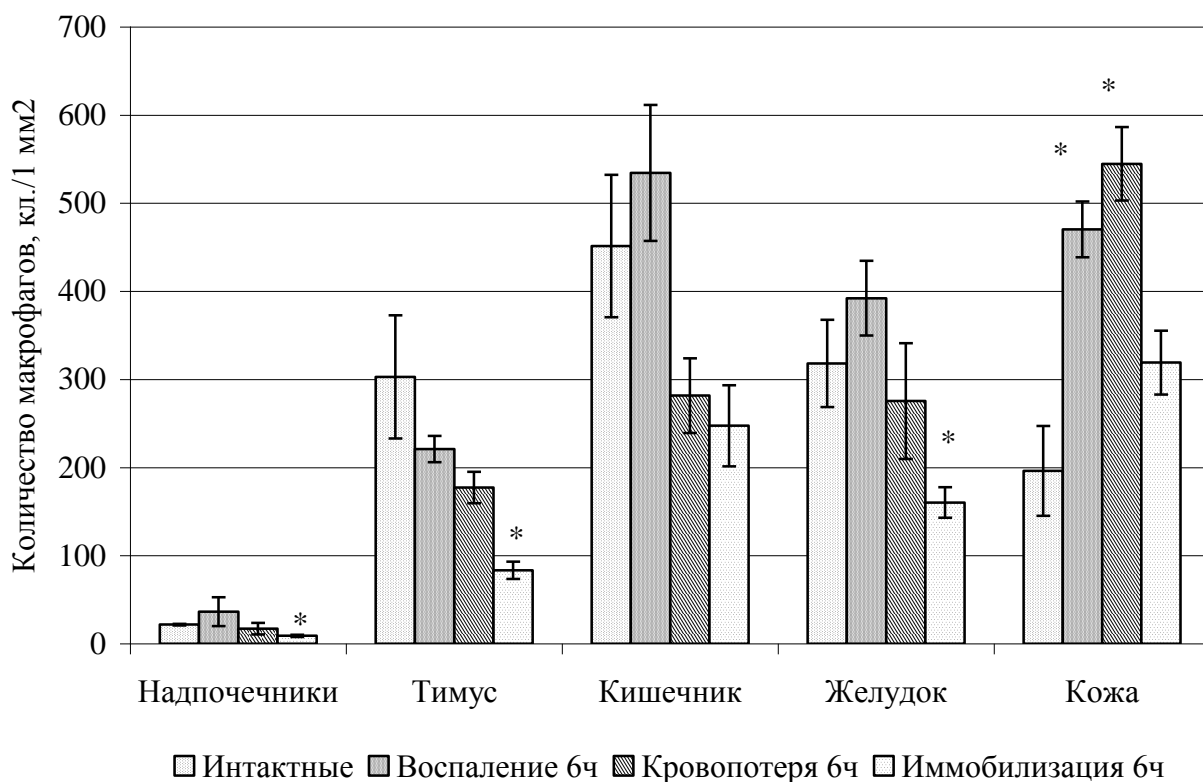


Рисунок 2 – Количество макрофагов в соединительной ткани различных органов при действии экстремальных факторов (* - различие с контролем достоверно ($p < 0,05$)).

При сравнении состояния макрофагального компонента соединительной ткани различных органов после иммобилизации обращает внимание общность реакции в

надпочечниках, тимусе, желудке и отчасти кишечнике (где снижение плотности макрофагов носит характер тенденции), рисунок 2.

После введения скипидара повышение количества макрофагов отмечается только в коже (исследованию подвергался участок, удаленный от места воспаления). Данная реакция, вероятно, обусловлена реакцией на флогогенный агент, ярко выраженной в месте воспаления, и прослеживающейся в коже на удаленном от места введения скипидара участке, но в меньшей степени. При кровопотере повышение плотности макрофагов отмечается тоже только в коже. Можно предположить, что вследствие нарушений гемодинамики и развивающихся гипоксических явлений в коже развиваются некробиотические изменения, стаз, и, как следствие, повышение количества макрофагов.

Количество тучных клеток после проведенных воздействий в изучаемых органах практически не меняется, рисунок 3.

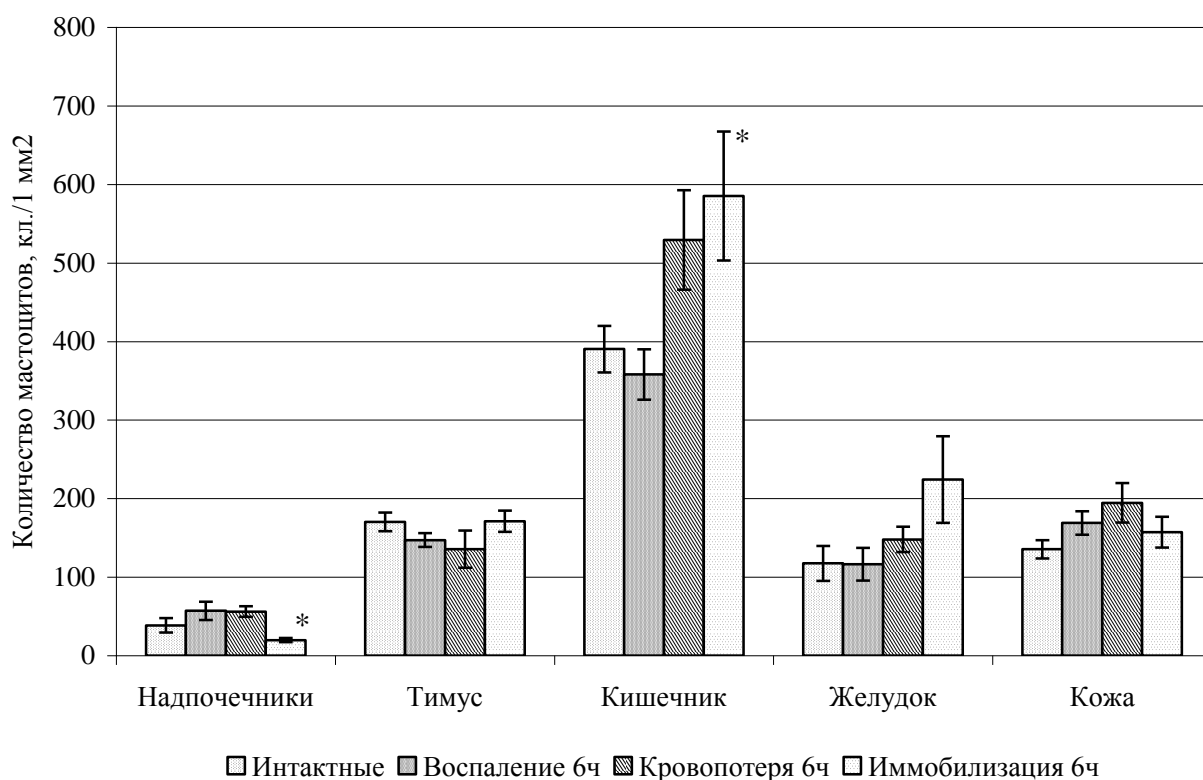


Рисунок 3 — Количество тучных клеток в соединительной ткани различных органов при действии экстремальных факторов (* - различие с контролем достоверно ($p < 0,05$)).

Главной реакцией на стресс со стороны мастоцитов является изменение функциональной активности. Однако, после иммобилизации повышается количество лаброцитов в кишечнике, в надпочечниках же отмечается снижение их плотности. Тучные клетки являются регуляторами локальной гемодинамики, секреторной активности.

Повышение количества мастоцитов в кишечнике после иммобилизации, обусловленное миграцией из костного мозга и периферической крови клеток-предшественников, а также их активная дегрануляция, связанная в первую очередь с выбросом гистамина, который является основным стимулятором париетальных клеток в секреции соляной кислоты, обуславливает развитие язвенно-деструктивных явлений. Известно также, что в регуляции секреции ЖКТ участвуют парасимпатическая и симпатическая нервные системы. Парасимпатическая (блуждающий нерв) стимулирует выработку в желудочных железах большого количества желудочного сока, богатого соляной кислотой и пепсином. Симпатическая нервная система подавляет активность желудочных желез. Вероятно, при стрессе, в результате активации симпатoadреналовой системы секреция в ЖКТ подавляется и тучные клетки, мигрируя в эти органы, компенсируют эти процессы, повышенным выделением гистамина.

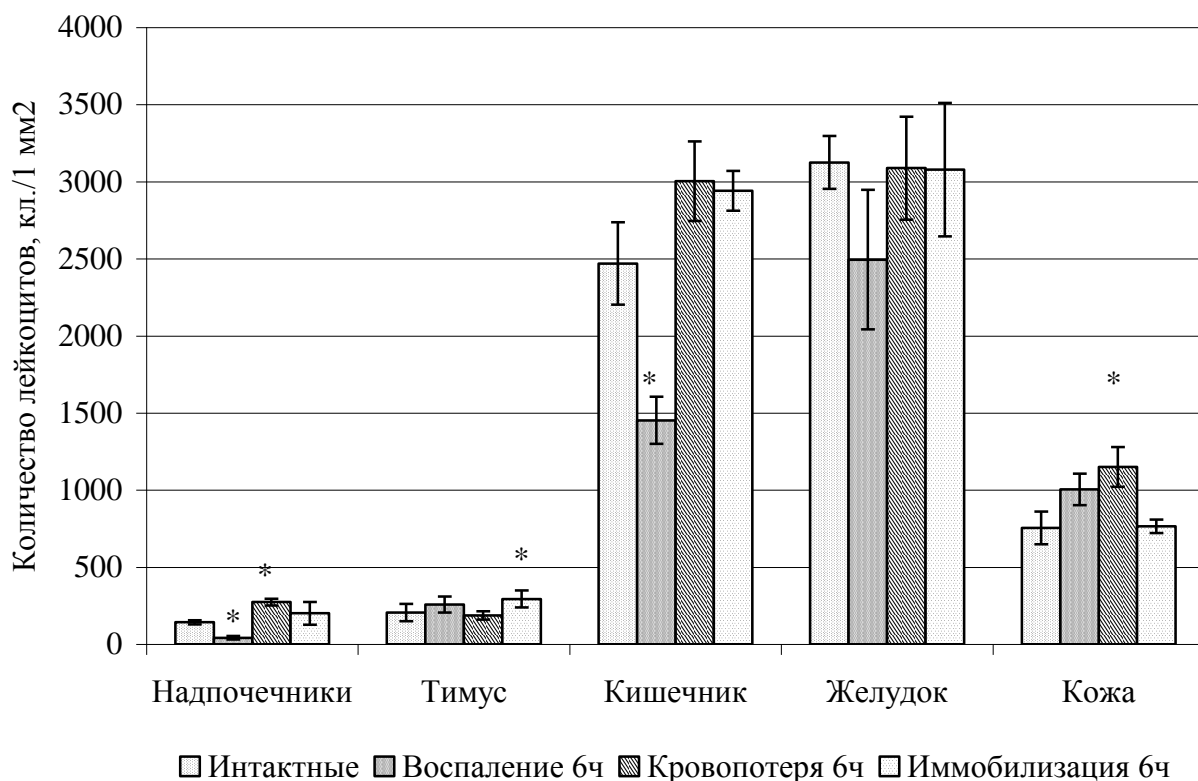


Рисунок 4 – Количество лейкоцитов в соединительной ткани различных органов при действии экстремальных факторов (* - различие с контролем достоверно ($p < 0,05$)).

На рисунке 4 представлены данные по количеству CD45+ клеток в органах после воздействий. Снижение количества лейкоцитов в надпочечниках и кишечнике связано, по-видимому, с их миграцией в очаг воспаления. После массивной кровопотери повышение

плотности лейкоцитов в капсуле надпочечников и коже, вероятно, вызвано расстройствами гемодинамики, что может приводить к деструктивным изменениям и, как следствие, привлечению в данные органы клеток лейкоцитарного ряда. В то же время в надпочечниках клетки иммунной системы осуществляют локальную регуляцию стероидогенеза и пролиферации адренокортикоцитов как за счет прямого паракринного действия, так и за счет регуляции кровотока в надпочечниках [20].

При развитии местной воспалительной реакции в коже повышается количество Ki-67 позитивных клеток, рисунок 5.

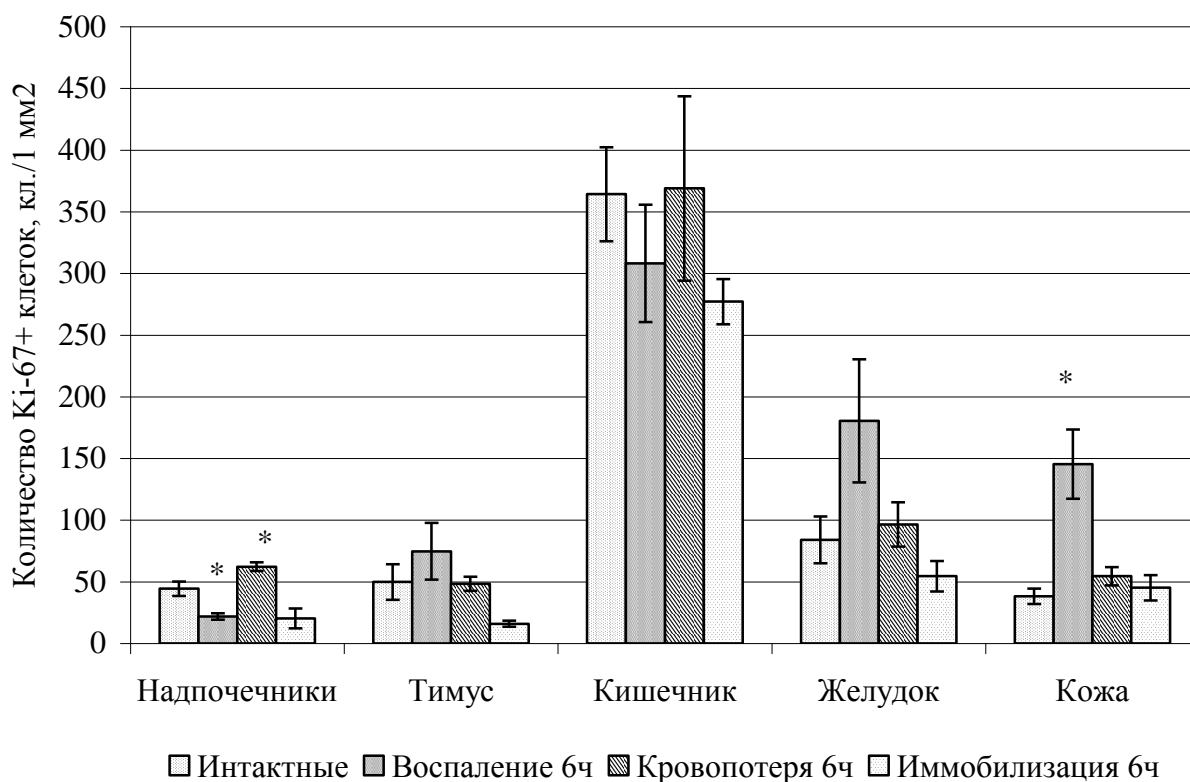


Рисунок 5 — Количество пролиферирующих клеток в соединительной ткани различных органов при действии экстремальных факторов (* - различие с контролем достоверно ($p < 0,05$)).

Известно, что в очаге воспаления отмечается увеличение количества пролиферирующих клеток. Вероятно, рост числа делящихся клеток соединительной ткани кожи связан с данным фактом. Кроме того через 6 часов после введения скипидара снижается количество Ki-67+ клеток в капсуле надпочечников. После иммобилизации не отмечено статистически значимого снижения количества делящихся клеток в капсуле надпочечников, данная реакция носит характер тенденции. После кровопотери, однако, количество пролиферирующих клеток капсулы надпочечников увеличивается относительно

контроля. В данном случае изменение пролиферативного потенциала клеток соединительной ткани надпочечников связано со специфическим действием экстремального фактора.

Ниже на рисунках 6 – 24 представлены диаграммы клеточного состава соединительной ткани изученных органов при различных воздействиях. Так проведенный анализ полученных данных показал, что в надпочечниках капсула образована преимущественно фибробластоподобными клетками, только около 10% клеточного состава приходится на клетки иммунной системы, большинство из которых – лейкоциты, рисунок 6. При развитии воспалительной реакции доля фибробластических клеток в капсуле повышается, а доля лейкоцитов снижается, что связано с привлечением последних в очаг воспаления, рисунок 7.

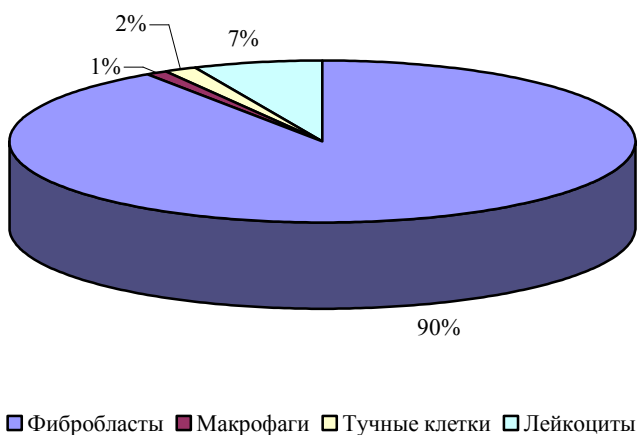


Рисунок 6 – Клеточный состав соединительнотканной капсулы надпочечников у интактных крыс.

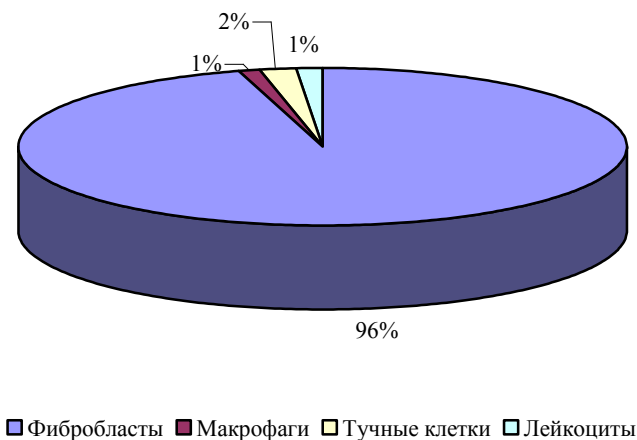


Рисунок 7 – Клеточный состав соединительнотканной капсулы надпочечников у крыс при воспалении.

Кровопотеря не изменяет соотношение клеточных элементов в надпочечниках, рисунок 8. После 6-ти часового иммобилизационного стресса процентное соотношение клеток в капсуле надпочечников практически не меняется, отмечается некоторое повышение доли лейкоцитов, рисунок 9.

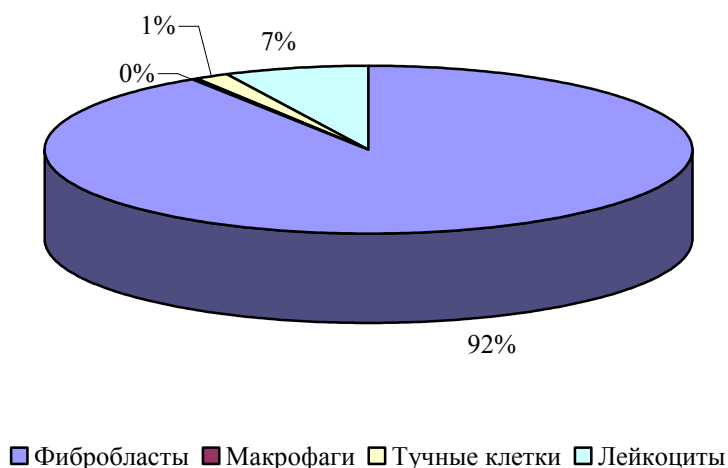


Рисунок 8 — Клеточный состав соединительнотканной капсулы надпочечников у крыс после кровопотери.

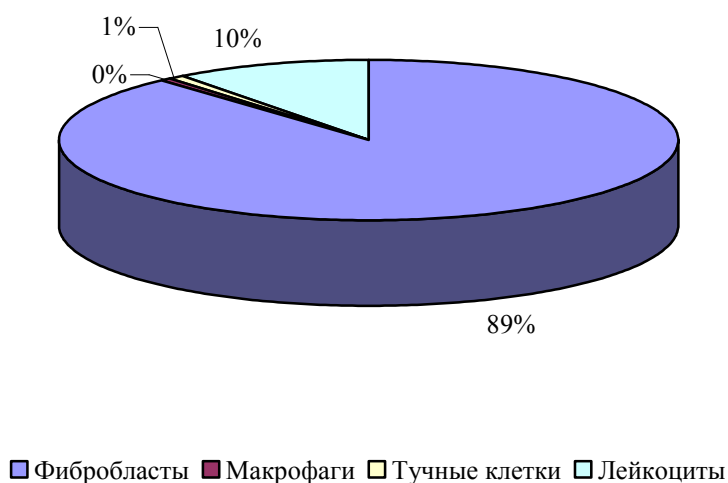


Рисунок 9 — Клеточный состав соединительнотканной капсулы надпочечников у крыс после иммобилизационного стресса.

Таким образом, острые стрессорные воздействия на раннем сроке практически не меняют соотношение разных клеточных типов соединительной ткани капсулы надпочечников.

В межлобулярной соединительной ткани тимуса соотношение клеточных элементов более сбалансированное, чем в капсуле надпочечников, рисунок 10. Первое место по численности занимают фибробласты, около четверти составляют макрофаги, значительное количество приходится на лейкоциты и тучные клетки. В ходе формирования в организме воспалительного очага клеточный состав соединительной ткани трабекул тимуса несколько изменяется, доля макрофагов понижается за счет роста процента лейкоцитов, рисунок 11.

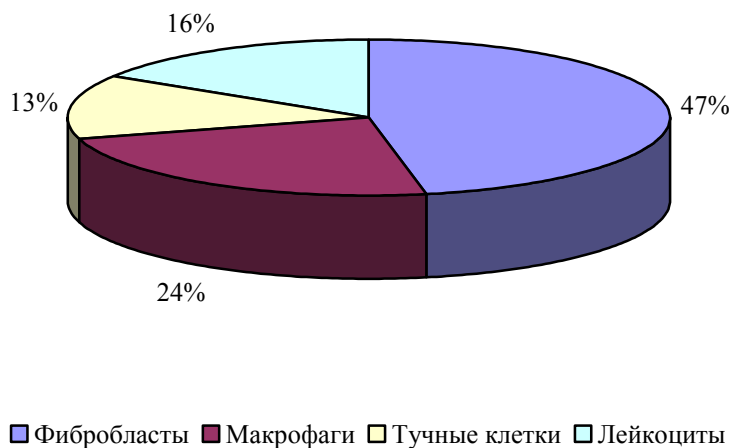


Рисунок 10 – Клеточный состав соединительных трабекул тимуса у интактных крыс.

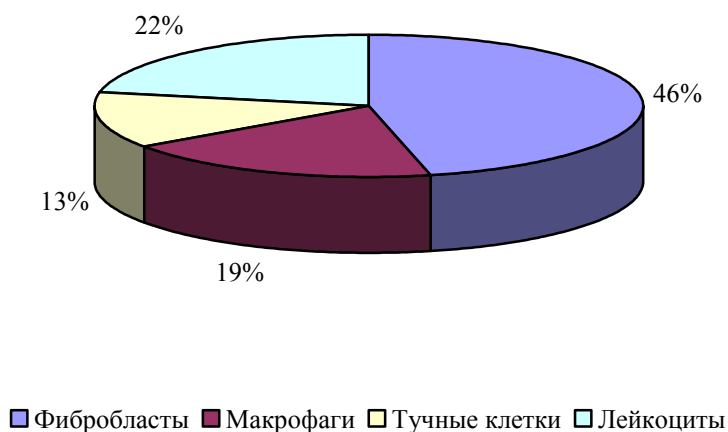


Рисунок 11 – Клеточный состав соединительных трабекул тимуса у крыс при воспалении.

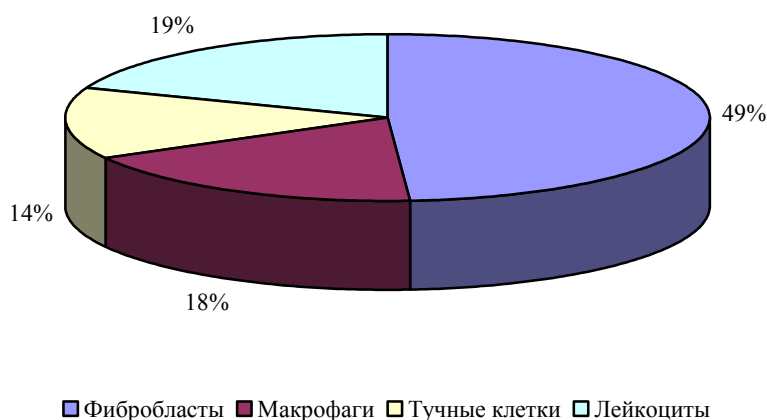


Рисунок 12 – Клеточный состав соединительных трабекул тимуса у крыс после кровопотери.

Сходные сдвиги в клеточном составе соединительной ткани тимуса отмечаются и после кровопотери, рисунок 12. Иммобилизационный стресс приводит к резкому повышению доли фибробластов в тимусе, также отмечается и повышение процента лейкоцитов при снижении вклада макрофагов, рисунок 13.

Таким образом, в трабекулах тимуса сходной реакцией на стрессорные воздействия различной направленности является снижение доли макрофагальных клеток, повышение вклада лейкоцитов и фибробластов.

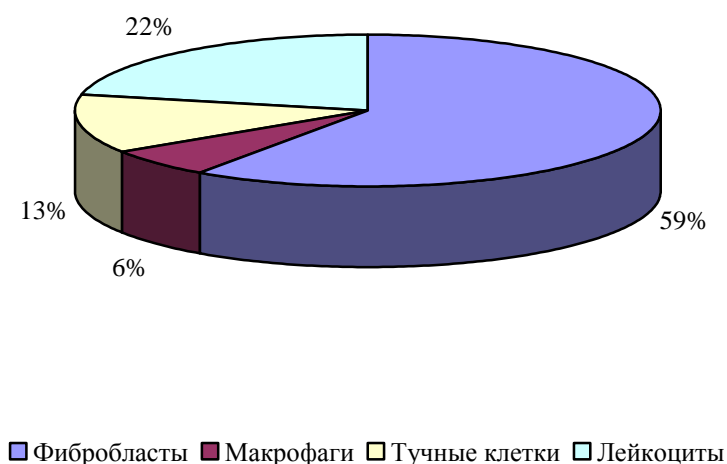


Рисунок 13 – Клеточный состав соединительных трабекул тимуса у крыс после иммобилизационного стресса.

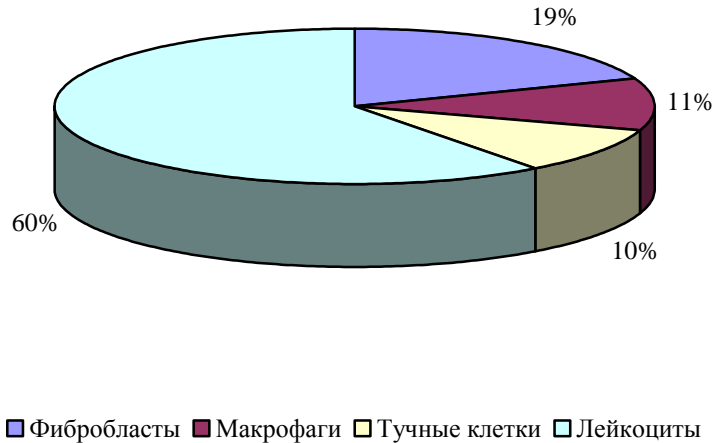


Рисунок 14 – Клеточный состав соединительной ткани кишечника интактных крыс.

В кишечнике интактных крыс 60% клеточного состава собственной пластинки слизистой приходится на клетки лейкоцитарного ряда, около пятой части – фибробласты, примерно равные доли (около 10%) составляют макрофаги и мастоциты, рисунок 14.

Через 6 часов после введения скипидара доля лейкоцитов резко снижается, при этом повышается доля фибробластов, рисунок 15. Также несколько увеличивается процентный вклад макрофагальных клеток.

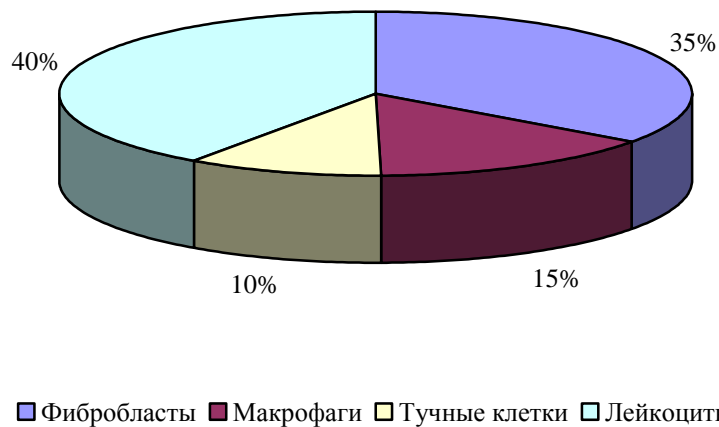


Рисунок 15 – Клеточный состав соединительной ткани кишечника крыс при воспалении.

Постгеморрагическая анемия через 6 часов приводит к повышению в соединительной ткани кишечника доли лейкоцитарных клеток при снижении вклада макрофагов, рисунок 16.

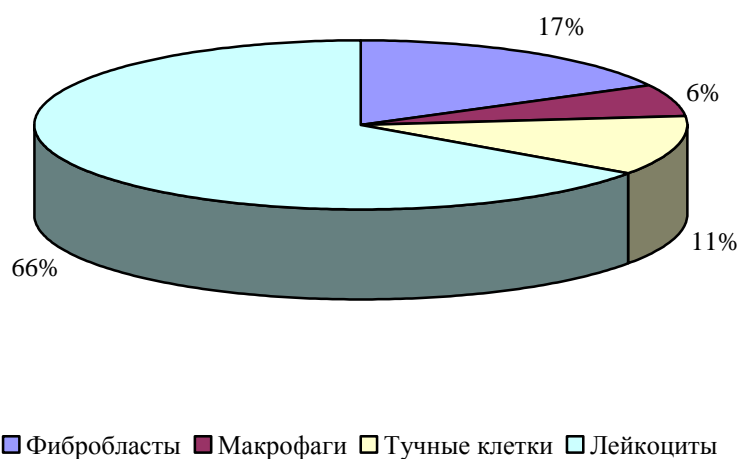


Рисунок 16 – Клеточный состав соединительной ткани кишечника крыс после кровопотери.

После иммобилизации в кишечнике увеличивается доля фибробластов и мастоцитов, при резком снижении процента макрофагов, рисунок 17.

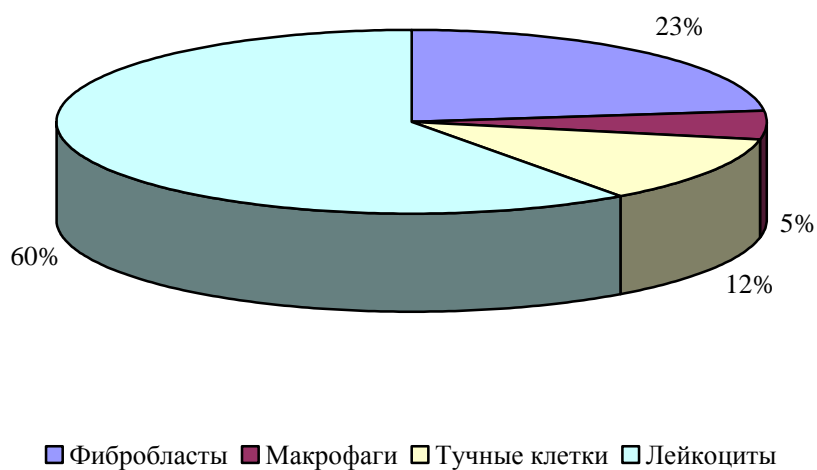


Рисунок 17 – Клеточный состав соединительной ткани кишечника крыс после иммобилизационного стресса.

Таким образом, соединительная ткань кишечника в ответ на различные воздействия реагирует по-разному, в силу специфики стрессорного фактора.

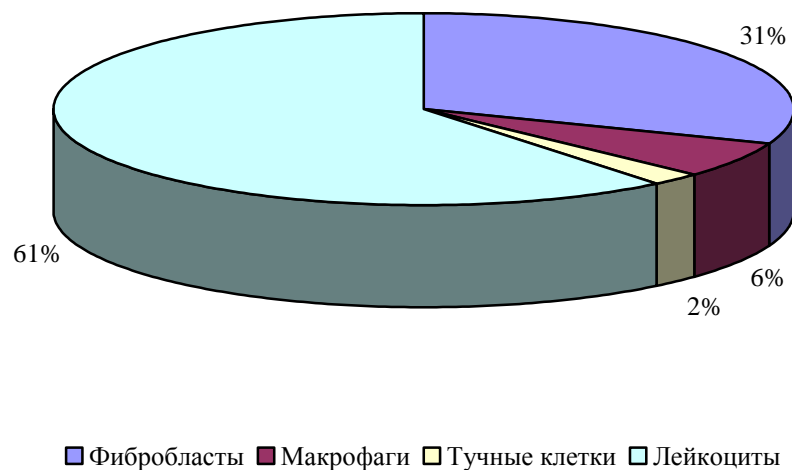


Рисунок 18 – Клеточный состав соединительной ткани желудка intactных крыс.

В соединительной ткани желудка intactных крыс, также как и кишечнике, существенно преобладают лейкоциты, на втором месте находятся фибробластические клетки, гораздо меньше вклад макрофагов и мастоцитов, рисунок 18. При воспалении клеточный состав соединительной ткани желудка практически не меняет свое процентное соотношение, несколько меняется соотношение лейкоцитов и макрофагов в сторону повышения доли последних, рисунок 19.

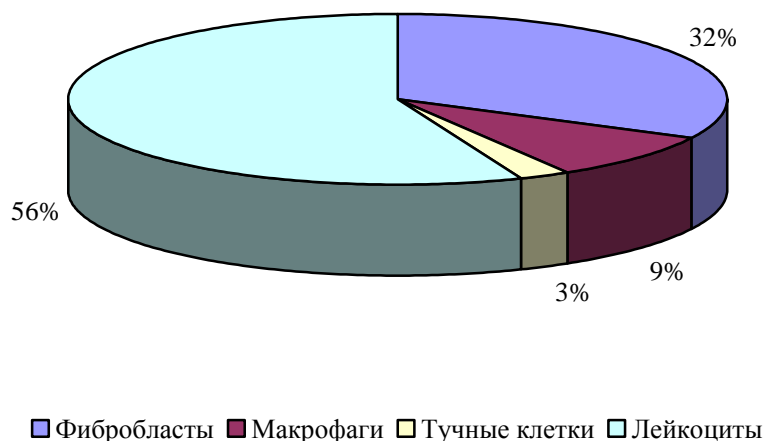


Рисунок 19 – Клеточный состав соединительной ткани желудка крыс при воспалении.

Однако, после кровопотери, наоборот, в желудке увеличивается доля лейкоцитов, при снижении вклада фибробластов, рисунок 20.

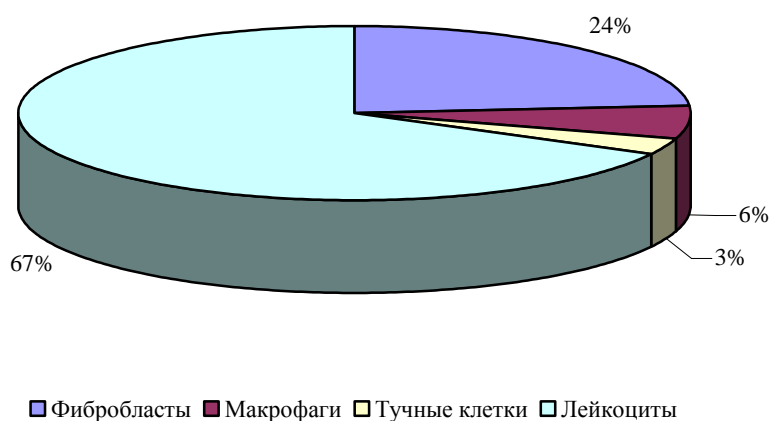


Рисунок 20 — Клеточный состав соединительной ткани желудка крыс после кровопотери.

После иммобилизационного стресса в собственной пластинке слизистой и подслизистой желудка отмечаются подобные сдвиги в процентном соотношении клеток соединительной ткани, рисунок 21. Увеличивается доля лейкоцитов, тучных клеток, снижается относительное количество фибробластов и макрофагов.

Таким образом, к общей ранней реакции на стресс со стороны соединительной ткани желудка можно отнести повышение доли клеток иммунной системы, тип которых зависит от специфики воздействия.

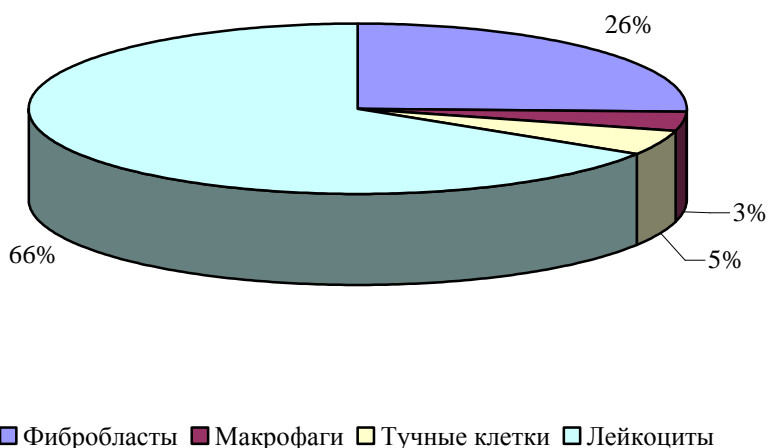


Рисунок 21 — Клеточный состав соединительной ткани желудка крыс после иммобилизационного стресса.

В коже intactных крыс больше всего содержится лейкоцитов, сравнимый вклад вносят фибробласты, рисунок 22. Доля макрофагов и тучных клеток также значительна. Стоит отметить, что в органах так или иначе контактирующих с окружающей средой – кишечнике, желудке и коже – значительный вклад в клеточный состав соединительной ткани вносят именно лейкоциты и другие иммунные клетки, что напрямую согласуется с их защитной функцией. Кроме того, в органах ЖКТ мобильные клетки иммунной системы могут принимать участие в регуляции процессов пищеварения.

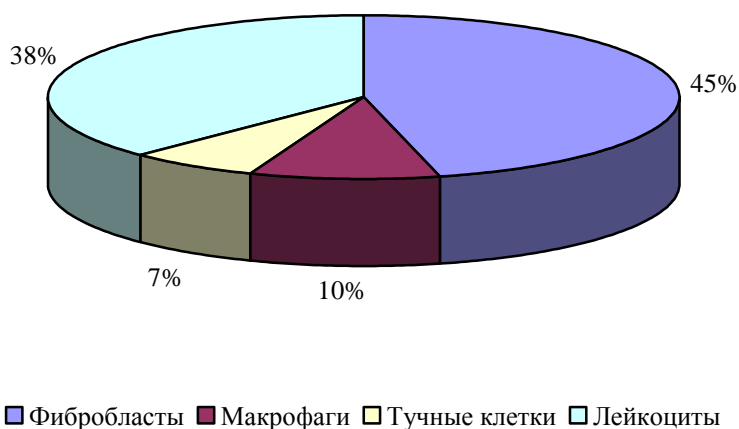


Рисунок 22 – Клеточный состав соединительной ткани дермы intactных крыс.

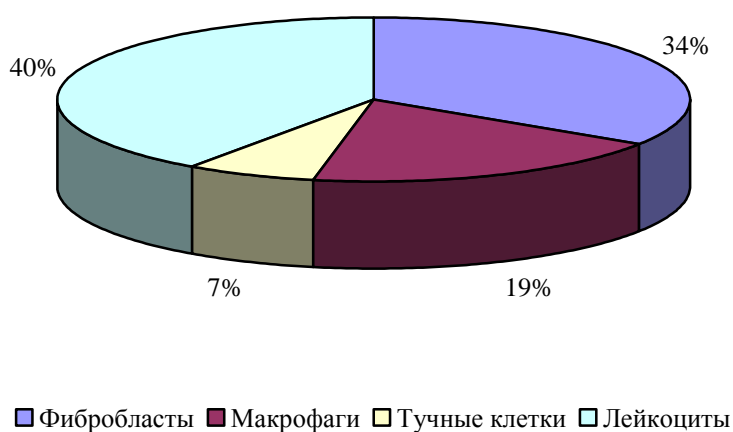
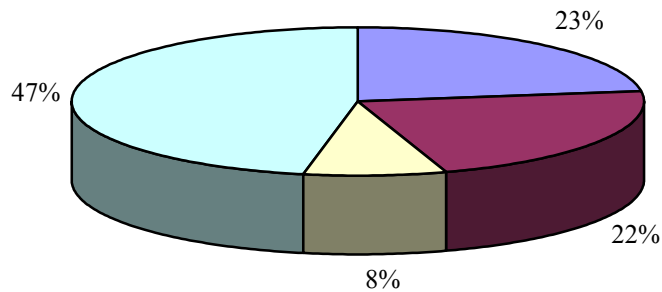


Рисунок 23 – Клеточный состав соединительной ткани дермы крыс при воспалении.

В коже крыс после введения скипидара отмечается повышение доли лейкоцитов и макрофагов, вклад фибробластов снижается, рисунок 23.



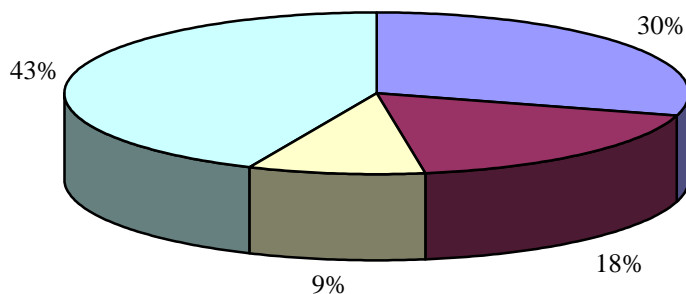
■ Фибробласты ■ Макрофаги ■ Тучные клетки ■ Лейкоциты

Рисунок 24 – Клеточный состав соединительной ткани дермы крыс после кровопотери.

Подобные же изменения с повышением доли лейкоцитов и макрофагов, при понижении относительного количества фибробластов, рисунок 24.

Иммобилизационный стресс вызывает повышение вклада лейкоцитов, макрофагов и мастоцитов в коже, доля фибробластов снижается, рисунок 25.

Таким образом, в коже прослеживается общая реакция соединительной ткани на различные воздействия. Соотношение клеточных элементов изменяется в сторону повышения доли лейкоцитов, макрофагов, отчасти тучных клеток, при снижении вклада фибробластов.



■ Фибробласты ■ Макрофаги ■ Тучные клетки ■ Лейкоциты

Рисунок 25 – Клеточный состав соединительной ткани дермы крыс после иммобилизационного стресса.

3. Отчет по обобщению и оценке результатов исследований

Проведенные исследования свидетельствуют, что в ответ на действие экстремальных факторов в соединительной ткани различных органов развивается ряд изменений, связанных с адаптацией организма к меняющимся условиям среды. Данные компенсаторно-приспособительные процессы затрагивают не только органы, вовлеченные напрямую в развитие стресс-реакции, но и те ткани, которые, в силу перераспределения энергетических и пластических потоков, оказываются в «убытке» (в нашей НИР – кожа). Воздействия, использованные в работе, не носили характера сверхсильных: воспаление развивалось по нормергическому типу, кровопотеря не была мгновенной и составляла не более 30% от общего объема циркулирующей крови. Исключение составляла 6-ти часовая иммобилизация. Данное воздействие иногда приводит к летальному исходу вследствие развития расстройств гемодинамики, истощения компенсаторных механизмов. Однако все же случаи летальных исходов относятся преимущественно к хронической иммобилизации, или связаны с исходным состоянием животного (за последние 5 лет после прекращения работы с животными из вивариев других учреждений, когда нет возможности адекватно оценить условия их содержания, в нашей личной практике не было зафиксировано летальных исходов после острого однократного иммобилизационного стресса). При этом состояние соединительной ткани после изучаемых воздействий даже на раннем сроке меняется. Проявляется данный феномен как в изменении абсолютного и относительного количества клеточных элементов, так и перестройке их функционального состояния (секреторной, синтетической активности, пролиферации).

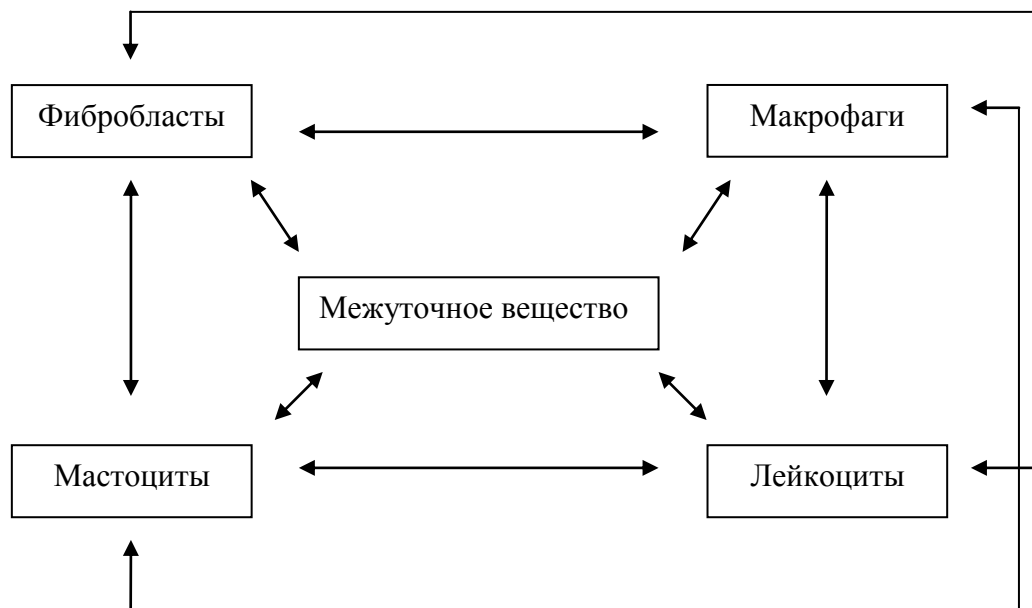
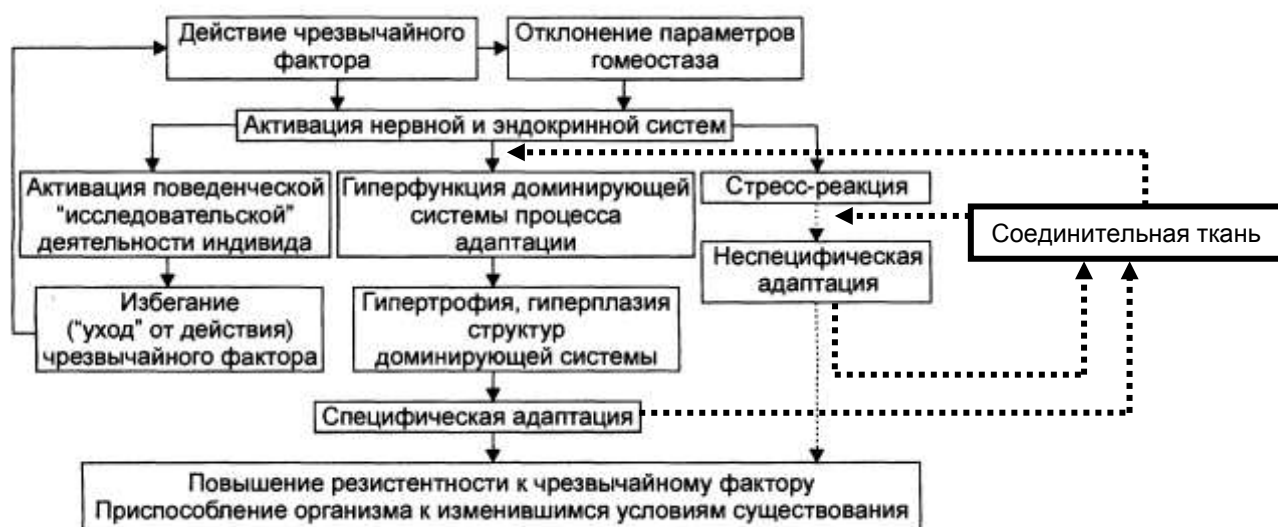


Рисунок 26 – Схема взаимодействия компонентов соединительной ткани.

Соединительная ткань многокомпонентная система взаимодействующих компонентов, которые оказывают влияние на функционирование друг друга, рисунок 26.

Поэтому изменение состояния любого из составляющих ее компонентов вызывает перестройку в работе всей системы в целом.

Реакция соединительной ткани, конечно, определяется спецификой органа, той функцией, которую несет данная ткань в реализации стресс-реакции. Однако, к неспецифическим проявлениям адаптивных процессов в соединительной ткани на ранних сроках можно отнести повышение доли иммунных клеток в ткани, повышение секреторной активности тучных клеток, преобладание катаболизма коллагена.



.....

— По данным собственных исследований

Рисунок 27 – Общая схема адаптационного синдрома на стадии повышенной устойчивой резистентности (по П.Ф. Литвитскому [21], дополненная по результатам НИР).

Гипотеза о роли соединительной ткани в адаптивных реакциях организма проиллюстрирована на рисунке 27. Соединительная ткань оказывается и эффекторным звеном в реализации неспецифической и специфической звеньев адаптивных процессов, и сама активно влияет на регуляцию компенсаторно-приспособительных процессов, поскольку определяет трофику тканей, секретирует множество регуляторных молекул (биоактивные амины, цитокины, производные арахидоновой кислоты). При этом стоит подчеркнуть, что соединительная ткань задействована как в неспецифических реакциях на стресс, так и специфической адаптации.

В ходе реализации 1-ого и 2-ого этапа НИР «Реакция соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов» нами были изучены количественные характеристики основных соединительно-тканых клеточных компонентов, проведена оценка их функциональной активности по показателям секреции и синтеза БАВ тучными клетками, пролиферации и деструктивным явлениям. Также была проведена оценка состояния коллагеновых волокон, как основного компонента межклеточного вещества. Проведен анализ полученного экспериментального материала, предложена гипотеза о роли соединительной ткани в реализации стресс-реакции. Результаты НИР оформлены в виде 2 научно-технических отчетов, 1 статьи в журнале из списка ВАК, 3 тезисов конференций российского уровня, положения НИР доложены в виде 3 устных и 1 стендового доклада на конференциях российского уровня, по результатам НИР оформлены и защищены 6 студенческих работ.

Методологически работа выполнена на высоком уровне, с использованием современных методов и подходов. Полученные результаты отвечают современному научно-техническому уровню.

Таким образом, есть основания считать поставленные цели выполненными, а задачи решенными. При этом полученные результаты дают почву для новых вопросов и идей поисковых НИР. Так было бы интересно проследить, как меняется состояние соединительной ткани при хронизации стрессорных воздействий и истощении адаптивных возможностей организма, либо при «выключении» отдельных звеньев адаптации. Кроме того, полученные данные в комплексе с известными аспектами наводят на мысль о необходимости изучения развития адаптивных явлений во времени, начиная с первых часов, заканчивая в зависимости от специфики повреждающего фактора. Для более глубокого понимания адаптивных процессов необходимо подходить к изучению компенсаторно-приспособительных явлений комплексно, проводя изучение явлений на разном уровне организации. В нашем исследовании проведено изучение как морфологических, биохимических и функциональных показателей, что дает более полную картину происходящих явлений. В настоящее время методологическая база постоянно расширяется, необходимо отрабатывать и применять все новые и новые подходы для реализации более полного понимания сути происходящих в организме адаптивных явлений. К подобным методам можно отнести оценку локализации и колокализации регуляторных молекул с помощью иммуногистохимических методов и конфокальной микроскопии. А также продукцию клетками цитокинов и других БАВ методами гибридизации *in situ* и иммуноферментного анализа.

Что касается предложений по реализации внедрения результатов НИР в учебный процесс, то необходимо активно привлекать к самому выполнению НИР студентов, при этом происходит обучение различным навыкам и методикам, формирование научного мировоззрения, развитие критического взгляда на природу явлений. Приемлемым является оформление результатов исследования в виде курсовых и дипломных работ. Кроме всего прочего материалы НИР следует включать в программы спецкурсов, что реализуется на кафедре физиологии человека и животных УрФУ. Так результаты настоящего исследования могут быть включены в программу спецкурсов «иммунофизиология», «физиология системы крови», «основы теории регенерации».

4. Публикация результатов НИР

Результаты НИР оформлены в виде 1 статьи в журнале ВАК с обязательной ссылкой на проведение поисковой научно-исследовательской работы в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 годы.

Получено экспертное заключение о возможности открытого опубликования.

Копия статьи прилагается к научно-техническому отчету.

Копия статьи

Копия статьи

Копия статьи

Заключение об открытом опубликовании

Заключение

На 2 этапе НИР в соответствии с заявленной проблемой «Реакция соединительной ткани при действии на организм экстремальных факторов» проведены экспериментальные исследования 2 этапа.

Осуществлено гематологическое исследование показателей периферической крови у крыс экспериментальных групп и у крыс в физиологических условиях.

Осуществлено гистологические и иммуногистохимические исследования полученных образцов органов у крыс после воздействий.

Проведена оценка морфофункционального состояния соединительной ткани надпочечников, тимуса, желудка, кишечника и кожи при действии острой массивной кровопотери, острого асептического воспаления, иммобилизационного стресса по абсолютному и относительному количеству фибробластов, СВ68+клеток (макрофагов), CD45+клеток (лейкоцитов) по их функциональному состоянию.

Проведено спектрофотометрическое исследование содержания общего оксипролина у крыс экспериментальных групп.

Составлен аналитический отчет о проведении экспериментальных исследований.

Представлен отчет по обобщению и оценке результатов исследований.

Результаты НИР оформлены в виде статьи в журнале ВАК.

Полученные экспериментальные данные 2 этапа НИР свидетельствуют о том, что соединительная ткань входит в функциональную систему, реализующую адаптивные реакции. Компоненты соединительной ткани подвергаются влиянию со стороны стресс-реализующих систем, но в тоже время сами оказывают регуляторное воздействие и определяют ход компенсаторно-приспособительных процессов. Общими неспецифическими проявлениям адаптивных процессов в соединительной ткани на ранних сроках являются повышение доли иммунных клеток в ткани, повышение секреторной активности тучных клеток, преобладание катаболизма коллагена.

Список использованных источников:

1. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме [Текст] / Г. Селье. - М.: Медицина, 1960. - 275 с.
2. Юшков Б.Г. Система крови и экстремальные воздействия на организм [Текст] / Б.Г. Юшков, В.Г. Климин, М.В. Северин. - Екатеринбург: УрО РАН, 1999. - 200 с.
3. Бабаева А.Г. Регенерация и система иммуногенеза [Текст] / А.Г. Бабаева. - М.: Медицина, 1985. - 255 с.
4. Данилова И.Г. Влияние системы фагоцитирующих мононуклеаров на регенерацию тканей с разной восстановительной способностью (экспериментальное исследование) [Текст] / И.Г. Данилова // Автореферат.- 2006.- С.50.
5. Доросевич А.Е. К методологии изучения коммуникационных систем [Текст] / А.Е. Доросевич, А.В. Бычков, Д.В. Булгин // Актуальные вопросы патологической анатомии : материалы III съезда Росс. общества патологоанатомов (26 – 30 мая 2009). Т.2. – Самара: ООО «ИПК «Содружество», 2009. – С. 149 – 151.
6. Арташян О.С. Изучение функциональной активности тучных клеток при иммобилизационном стрессе. [Текст] / О.С. Арташян, Б.Г. Юшков, Е.А. Мухлынина // «Цитология».- 2006.- Т.48, №8.- с. 665-668.
7. Богомолец О.О. Вибрані праці. [Текст] / О.О. Богомолец. – Київ : «Наукова думка», 1969. – 422 с.
8. Юшков Б.Г. Некоторые особенности структурной организации и функциональная гетерогенность кроветворной ткани [Текст] / Б.Г. Юшков, С.В. Сазонов // Вестник Уральской государственной медицинской академии. - 1995. - № 1. - С. 30 - 32.
9. Sandakov D. Turpentine-induced fever during stimulation and inhibition of hepatic protein synthesis [Text] / D. Sandakov, V. Gerein // J Therm Biol. – 2003. – v. 28. - № 6 – 7. – P. 439 – 443.
10. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники [Текст] / Г.А. Меркулов // Л: Медицина. - 1969. - С. 423.
11. Шубич М.Г. Метод электрокраски кислых (сульфатированных) мукополисахаридов основным коричневым [Текст] / М.Г. Шубич // Бюлл. эксп. биол. и мед. - 1961. - № 2, С. 116 - 120.
12. Chrishan S. Samuel. Determination of Collagen Content, Concentration and Sub-types in Kidney Tissue [Text] / Edited by: T.D. Hewitson and G.J. Becker // Kidney Research: Experimental Protocols. – NY: A Humana Press 2008. – Chap. 16. – P. 223-235.
13. Damoiseaux J. Rat macrophage lysosomal membrane antigen recognized by

monoclonal antibody ED1 [Text] / J G Damoiseaux, E A Döpp, W Calame, D Chao, G G MacPherson, and C D Dijkstra // Immunology. – 1994. – 83(1). – P. 140–147.

14. Clement L.T. Isoforms of the CD45 common leukocyte antigen family: markers for human T-cell differentiation [Text] / L.T. Clement // Clin. Immunol. – 1992. – 12. P. 1-10.

15. Key G. Assessment of cell proliferation by means of an enzyme-linked immunosorbent assay based on the detection of the Ki-67 protein [Text] / Key G, Kubbutat MH, Gerdes J. // J Immunol Methods. – 1994. – 177. – P. 113-117.

16. Булгакова О.С. Общий клинический анализ крови как метод постстрессорной реабилитации [Текст] / Булгакова О.С., Баранцева В.И. // Успехи современного естествознания. – 2009. - №6. – С. 22 – 27.

17. Мамонтова Е.В. Влияние α -токоферола на степень перекисного гемолиза эритроцитов белых мышей в норме и при иммобилизационном стрессе [Текст] / Мамонтова Е.В. // Современные проблемы науки и образования. – 2006. - №6. – С. 27 – 28.

18. Houck P.C. Regulation of adrenal blood flow: response to hemorrhagic hypotension. [Text] / Houck P.C., Lutherer L.O. // Am. J. Physiol. – 1981. – 241. – P. 872-877.

19. Huang C.J. Progenitor cell expansion and organ size of mouse adrenal is regulated by sonic hedgehog. [Text] / Huang C.J., Barsoum I.B., Miyagawa S., Matsumaru D., Parker K.L., Yao H.H. // Endocrinology. - 2010. – 151. - P. 1119 – 1128.

20. Hinson J.P. The relationship between adrenal vascular events and steroid secretion: the role of mast cells and endothelin. [Text] / Hinson J.P., Vinson G.P., Kapas S., Teja R. // J Steroid Biochem Mol Biol. – 1991. - 40(1-3). – P. 381-389.

21. Литвицкий П.Ф. Патифизиология: Учебник: В 2 т. / П.Ф. Литвицкий. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2003. –Т.1. -752 с.